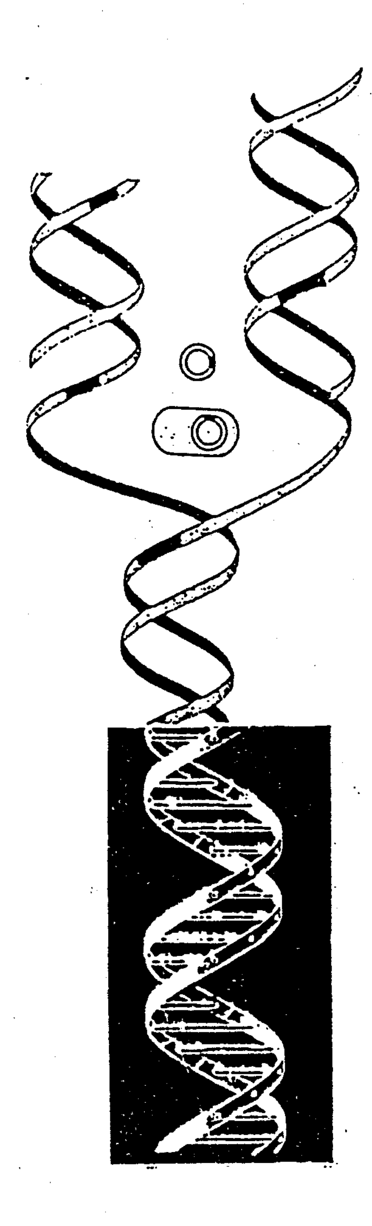


الوراثة
و
الهندسة الوراثية

مدخل إلى تكنولوچيا الچينات

دكتور

هاشم أحمد حسين

أستاذ الوراثة - كلية الزراعة
جامعة القاهرة

الجزء الأول

رقم الإيداع بدار الكتب
١٩٨٩ / ٩٠٠٧

مقـــدمة الكتـــــاب

تفتقر المكتبة العربية — في الوقت الحاضر — إلى العديد من المراجــع في العلوم الحديثة ، لذلك يعتبر هذا الكتاب صورة جديدة لسلسة من الكتب السابقة التي تمت بإعدادها أو ترجمتها في مجال علوم الوراثة . فمع التطـــور السريع وتَوَفُّر كمّ هائل من المعلومات في مجال علوم البيولوجيا ، وبخاصة علـــم الوراثة والوراثة الجزيئية والهندسة الوراثية ، أصبح من المحتم أن أحـــاول تقديم كتاب جديد تحت اسم "الوراثة والهندسة الوراثية" ليحوى أحدث ما توصل إليــه علماء الوراثة الحديثة من معلومات ، تعتبر بحق ثورة علمية بكـــل المقاييـــــــس.

ويتميــز الكتاب في صورته الجديدة بالسهولة وتسلسل عرض الموضوعـات بحيث يَجد فيه الباحث والطالب والاستاذ حاجته من المعلومات الوراثيـــــة الحديثة في صورة مبسطـــــة .

يُشتَمِل الكتاب في بابه الاول بمقدمة عن تاريخ وتطور علم الوراثـــة منذ نشأته في بداية هذا القرن وحتى وقتنا الحاضر ، لكن في الابواب الـــتي تلي ذلك ، لم أتبع الاسلوب التقليدي في عرض الموضوعات لانني أرى أنّ مـــا درسه طالب علوم البيولوجيا في مرحلة الدراسة الثانوية يعتبر مقدمة كافيــــة للدخول في دراسته للوراثة الحديثة . لذلك سوف يحتوى الكتاب سبعة عشـــر بابا في جزئين ، ويشمل كل باب منها موضوعا بذاته . وقد رُتِّبَت الابواب بتسلسل منطقي بحيث يخدم كل باب الموضوع المعروض في الباب الذي يليــــه .

ويشمل الجزء الاول من الكتاب اثنا عشر بابا ، تتناول معظمهـــــا الوراثة الحديثة من منظور جزيئي . وتتناول الابواب من ٢ إلى ٥ موضوعـــات

مترابطة تختص بالطبيعة الكيميائية والفيزيائية للمادة الوراثية ، من حيث تركيبها وتنظيمها وطريقة تناسخها وتشكلها داخل الكروموسومات وخارج النطاق النووى ، وكذلك طريقة تبدلها وتباينها . كما تشمل الابواب من ٦ إلى ١٠ موضوعات تختص بأسس وأساليب التباين فى الكائنات الحية الراقى منها والدنىء . ويشمل البابان ١١ و ١٢ موضوعات تختص بوظيفة المادة الوراثية وطريقة تعبير الجينات عن ذاتها .

أما الجزء الثانى من الكتاب ، وهو يقع فى خمسة أبواب ، فيشتمل على عرض تفصيلى لأحدث علوم الوراثة ألا وهو "الهندسة الوراثية" - نشأتها وأساليبها كتكنولوجيا حديثة وطرق تطعيم واستزراع الجينات والتطبيقات العلمية والعملية لهندسة الجينات ومايحمله ذلك من منظور إحتمال إعادة تشكيل صور الحياة ومستقبل الجنس البشرى .

ويحتوى الكتاب على فهرس واف من المصطلحات العلمية الوراثية الحديثة باللغة الانجليزية ومايقابلها من الكلمات العربية حاولت ترجمتها قدر جهدى .

وبالرغم من عرض بعض المراجع - من آن لآخر - فى نهاية بعض الابواب ، فقد تم تذييل هذا المؤلف بعدد لا بأس به من المراجع الحديثة حتى تخدم القارىء الذى يرغب فى مزيد من الاطلاع .

وأخيرا أرجو أن أكون قد وفقت فى وضع هذا الكتاب كمرجع متواضع فى علوم الوراثة الحديثة للمكتبة العربية ، ويسعدنى أن أتلقى من كل الزملاء المتخصصين نقدهم البناء لهذه الطبعة حتى أتمكن من تلافى أوجه القصور فى الطبعات القادمة إن شاء الله .

والله ولى التوفيق ،

القاهرة : ديسمبر ١٩٨٩

دكتور / هاشم حسين

محتـــويات الكتـــاب

الباب والموضوع :	رقم الصفحة

الباب والموضوع : رقم الصفحة

الباب والموضوع : رقم الصفحة

(الجـــزء الثانـــــــى)

الباب والموضوع: رقم الصفحة

الباب الاول

مقدمة عن تاريخ وتطور علوم الوراثة

يمكن القول أن التوارث نشأ مع نشأة الحياة على ظهر الارض ،فظاهرة التوارث heredity ، وهى تعنى إعادة ظهور خصائص الكائن الحى فى نسله ، ظاهرة قديمة قدم الحياة ذاتها . والشيء المؤكد هو أنّ الحياة لاتنشأ إلا من حياة سابقة لها فى الوجود . وقد وضعت عدة نظريات لمحاولة تفسير كيفية ظهور الحياة الاولى على الارض ،أهمها من وجهة النظر الدينية هى نظرية الخلق الالهى ،ثم تلتها حتى وقتنا الحاضر نظريات فى النشأة التلقائية للحياة . وآخر هذه النظريات هى نظرية "البذور الكونية الموجهة للحياة" والتى وضعها كل من "فرانسيس كريك F. Crick وليسلى أورجل L. Orgel عام ١٩٨٠ ،وهذه النظرية هى أقرب النظريات إلى نظرية الخلق الالهى .

نشأة علم الوراثة وتطوره :

شهد علم الوراثة ،كغيره من العلوم الطبيعية ،قفزات علمية شامخة جعلت منه مركزا رئيسيا لكل علوم الحياة ،لذلك سوف نعرض لتاريخ وتطور هذا العلم – منذ نشأته – فى مجموعة من العصور الذهبية الرائدة . فبالرغم من أنّ النتائج المثيرة التى توصل إليها العالم النمساوى "جريجور مندل ١٨٦٥ ، لم تسترع انتباه علماء عصره وظلت فى طى النسيان قرابة ٣٥ عاما ،فقد تمكن ثلاثة من العلماء وهم : هيجو ديفريز H. de Vries الهولندى ، وكورنز Correns الالمانى ، وتشيرماك Tschermak النمساوى ، وكان كل منهم يجرى تجاربه مستقلا

عن الآخر ،من إعادة اكتشاف القواعد المندلية عام ١٩٠٠ . لذلك تعتبر بداية نشأة علم الوراثة منذ ذلك التاريخ . وبناء على ذلك يمكن تقسيم نمو وتطور هذا العلم إلى العصور التاليـــة :

١ ـ العصر الذهبى الأول لعلم الوراثة (١٩٠٠ ـ ١٩٥٠) :

يعتبر النصف الأول من القرن العشرين ،عقب إعادة اكتشاف القواعد المندلية عام ١٩٠٠ ـ هو العصر الذهبى الأول لعلم الوراثة . فقد نما هذا العلم بسرعة فائقة ،حيث جرت موجة عارمة من الأبحاث فى الكائنات الحيوانية والنباتية أكدت جميعها حقيقة ما توصل إليه مندل . ولقد بين كل من "كينوت Cuenot" "وبيتسون Bateson" " وساوندرز Saunders" عام ١٩٠٢ أنّ الوراثة المندلية تحدث أيضا فى الحيوان ،كما هو الحال فى النبات. ولقد لفت العالمان الأخيران ،الأنظار إلى أنّ كثيرا من نتائج الأبحاث التى أجريت قبل عام ١٩٠٠ يمكن تفسيرها طبقا للقواعد المندلية.

ويعتبر العالم " ستون W.Sutton"(عام ١٩٠٣) أول من اقترح أنّ الجينات تُحمَل فى الكروموسومات وفسّر الانعزالات المندلية على أساس سيتولوجى . وعقب ذلك لاحظ كثير من علماء البيولوجيا وجود توازٍ عام بين سلوك الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى وتكوين الجاميطات، وكذلك أثناء الاخصاب ،يشابه إلى حدٍّ كبير سلوك الجينات فى التجارب الوراثية . ولقد عُضّدَت فكرة وجود الجينات فى الكروموسومات ببراهين تجريبية قدّمها العالم "توماس هنت مورجان T.Morgan" (عام ١٩١٠).

وقد تمكن مورجان ومعاونوه ـ منذ عام ١٩١١ ـ من تصميم طرق لتوقيع خرائط وراثية للجينات فى حشرة الدروسوفلا . وبحلول عام ١٩٢٢ ، تمكن هذا الفريق العلمى من تحديد مواقع أكثر من ٢٠٠٠ جين على

الكروموسومات الأربعة لهذه الحشرة ،وتوّجت جهودهم بوضع نظرية الكروموسومات للوراثة بحلول عام ١٩٢٥ . ومنذ اكتشاف موللر H.P.Müller (١٩٢٧) إمكانية الاستحداث الاصطناعي للطفرات باستخدام الأشعة السينية (أشعة X) ،ثم تبعة ستادلر Stadler (عام ١٩٣٠) في الشعير ،ودخول الكائنات الدقيقة كمادة للبحث الوراثي (جريفث Griffth عام ١٩٢٩) تقفز علم الوراثة قفزات هائلة .

وحتى عام ١٩٤٠ ظلت الطبيعة الجزيئية للجينات غير معروفة . ولم يكن معروفا بين علماء البيولوجى أنّ الدنا هو المكوّن الأساسى للمادة الوراثية ،إلى أن قدم كل من أفرى Avery ،ماكلويد MacLeod ومكارثى McCarthy نتائج تجاربهم على التحوّل الوراثى فى البكتريات (عام ١٩٤٤) ،ثم تلاهم كلا من هيرشى Hershey وتشيز Chase (عام ١٩٥٢) فى تجارب العدوى بالبكتريوفاج ،قدموا الدليل القاطع والمباشر على أنّ الدنا هو المكوّن للجينات.

٢ ــ العصر الذهبى الثانى لعلم الوراثة (١٩٥٠ ــ ١٩٧٠):

بدأت إرهاصات العصر الذهبى الثانى لعلم الوراثة تبدو فى الأفق العلمى البيولوجى فى أوائل حقبة الخمسينات من هذا القرن ،عقب اكتشاف العالمين جيمس واطسون J.Watson وفرانسيس كريك F. Crick عام ١٩٥٣ التركيب البنائى الجزيئى للدنا فى الكروموسومات كأساس لتفسير سلوك المادة الوراثية . ويعتبر كل من ديلبروك Delbruck ،وشارجاف Chargaff ،وكريك Crick ،ومونود Monod ،فريز Freese وكورنبرج Kornberg (الذى فاز بجائزة نوبل عام ١٩٥٩ عن تجاربه فى تخليق الدنا اصطناعيا فى الأنبوب) من أكثر علماء الوراثة

والكيمياء الحيوية الذين ساهموا بطريقة فعّالة في بزوغ فجر العصر الذهبي الثاني لعلم الوراثة ، والذي يمتد حتى عام ١٩٦٦ . ففي خلال فترة قصيرة نسبيا (حوالي ١٥ سنة) تم استيضاح معظم خبايا التركيب البنائي للدنا والرنا ، وحَلّ رموز الشِّفْرة الوراثية ومعرفة خبايا عمليتي النسخ Transcription والترجمة Translation للمعلومات الوراثية في الخلية ، كما تم اكتشاف الكثير من فعل الانزيمات وعلاقتها بعمليات البناء والتمايز وتنظيم عمل الجينات .

٣ـ العصر الذهبي الثالث لعلم الوراثة (عصر الهندسة الوراثية) : (١٩٧١ ـ حتى الآن)

بعد فترة توقف دامت حوالي ٥ سنوات ، تخللها تدبّر وتأمّل في مجال البحث الوراثي والبيولوجيا الجزيئية ، تفجرت ثورة جديدة في علوم البيولوجيا الحديثة ما بين عامي ١٩٧١ ، ١٩٧٣ ، حيث شُيِّدَت طرق حديثة تُمكِّن علماء الوراثة والكيمياء الحيوية من تصميم وإجراء تجارب كان من المستحيل إجراؤها في السابق . ومن هذه التجارب المثيرة تجارب التطعيم والاستزراع الجيني والتي استهلّها كل من شانج Chang وكوهين Cohn عام ١٩٧٣ بتطعيم مقاطع من الكروموسوم البكتيري للاستافيللوكوكس Staphyllococcus على بلازميدات غير مختصة بالتزاوج تم استزراعها في بكتريا إ . كولاي ، حيث عبّرت جينات الاستافيللوكوكس عن نفسها في البكتريا المستضيفة . وتعرف هذه التقنيات حاليا باسم تكنولوجيا الدنا المطعم Recombinant DNA-Technol. أو ما هو معروف باسم " الهندسة الوراثية Genetic Engineer. " وفي وقتنا الحاضر خطت عمليات كلونة الجينات gene cloning وهي جوهر التقنيات الحديثة ـ خطوات واسعة ، حيث بدأت تطبيقات نتائجها المثيرة

فى علـــوم الطب والصيدلة والزراعة ،تُؤتى ثمارها منذ عام ١٩٨٠ ،وما زال فى جعبتها الكثير مما تقدمه خلال العِقْد الأخير من القرن العشريـــن والذى ينبىء بثورة عارمة لرفاهية الجنس البشرى خلال القرن الحـــادى والعشريـــن •

الأهمية التطبيقية لعلم الوراثة والهندسة الوراثيـة :

رغم أنّ علم الوراثة من العلوم الحديثة إلاّ أن ارتباطه الوطيد بتقـدم ورفاهية الجنس البشرى ،جعله من أهم العلوم الطبيعية التى تهتم بهـــا الشعوب والحكومات فى جميع أنحاء العالم ، فأغدقت عليه من التدعيم المـادى وتشجيع البحث العلمى فى مجالاته المختلفة مالم ينله غيره من العلـــوم البيولوجية الأخرى ، لدرجة أنه فى السنوات القليلة الماضية يمكن القـــول بأنّ معدّل نمو المعلومات الوراثية ربما يتضاعف كل سنتين تقريبـــا •

وتطبيقات علم الوراثة من الناحيتين العلمية والعملية غنية عن البيـان • فمن الناحية العلمية له علاقة بتفسير نظريات النشوء والتطور والتى تعتمـد أساسا على التوارث والتصنيف ،كما أنه يُستَخدم على المستوى المورفولوجـى والسيتولوجى والجزيئى فى علوم التقسيم Taxonomy سواء فى المملكـــة الحيوانية أو المملكة النباتية أو مملكة الكائنات الدقيقة ، كما أنّ ارتباطـه بعلم الكيمياء الحيوية قد مكّن العلماء من تفسير ومعرفة كثير من العمليـات الكيمحيوية داخل الخلية والسيطرة عليهـــا •

أما من الناحية العملية ،فانّ ما قدمه وما سوف يقدمه هذا العلـــم لرفاهية الجنس البشرى لغنىّ عن البيان • فقد أدّت تطبيقاته إلـــى تحسين كبير فى جميع مجالات الانتاج الحيوانى والنباتى والميكروبى كمـّـاً ونوعا • فالأصـناف والسلالات الحيوانية والنباتية والميكروبية ذات الخصائص

المميزة وعالية الانتاج والمقاومة للأمراض والآفات والظروف البيئية غير المناسبة والتى تلبى كل احتياجات الانسان كانت ومازالت من أهداف التطبيق العلمى لعلم الوراثة والهندسة الوراثية . كما أنّ هذا العلم هو الذى أنار الطريـق وقدم التقنيات لتحسين الجنس البشرى ذاته Eugenics ،عن طريـق دراسة وعلاج الكثير من الأمراض الوراثية والعيوب الخِلقية والنفسيـة والاجتماعية . وتقدم تقنيات الهندسة الوراثية سبلا فعّالة فى وقتنا الحالـى فى هذا المجال عن طريق تصحيح الجهاز الوراثى للانسان وهو ما يعـرف "بالجراحة الوراثية " . كما أنّ هذه التقنيات الوراثية الحديثة قد دخلت مجالات صناعة الدواء والمخصبات الزراعية وتخليص البيئة من التلـوث والاستغلال الأمثل للموارد الطبيعية ، مما ينبئ بمستقبل أفضل وعالـم تسوده الرفاهيـة .

علاقة علم الوراثة بالعلوم الأخـرى :

لما كان علم الوراثة يمثل مركز العلوم البيولوجية ، فقد تداخل هذا العلم مع جميع علوم الحياة وعلم الاجتماع ،ولذلك فقد نشأ من تزاوج علم الوراثة مـع العلوم الأخرى ، الفروع التالية من علم الوراثـة :
الوراثة السيتولوجية Cytogenetics ،الوراثة الفسيولوجيـة Physiological Genetics ، الوراثة التكوينية Developmental Genetics (تزاوج علم الوراثة وعلم الأجنة) ،الوراثة الكميـة Quantitative G. ، (علم توارث الصفات القياسية) ،وراثة العشائر Population G. (السلوك الوراثى فى عشائر الكائنات الحية) ،الوراثـة الاشعاعية Radiation Genetics (أثر الاشعاعات على الجهـاز الوراثى) ،وراثة الكائنات الدقيقة Microbial Genetics بأنواعهـا

المختلفة ، الوراثة الكيميحيوية Biochemical Genetics ، وراثة المناعة Immuno-genetics ، الوراثة الجزيئية Molecular G. ، الوراثة البشرية Human Genet. ، وآخر وأحدث العلوم الوراثية هو "الهندسة الوراثية G. Engineering وهو علم التطعيم الجيني وتخطي حواجز الأنواع .

تعريف علم الوراثة :

تتميز جميع صور الحياة المعروفة على أو في كوكب الأرض بظاهرة قوة المحافظة على النوع Conservatism وهي القوة التي يُعزى إليها احتفاظ كل نوع بخصائصه التي تميزه عن غيره من الأنواع الحية الأخرى . فالنسل الناتج من إنسان يكون إنسانا فيه كثير من التشابه مع أبويه واخوته . وينطبق ذلك على الأنواع المختلفة من الكائنات الحيوانية والنباتية والميكروبية . وهذه القوة هي التي يرجع إليها حفظ الأصناف والطرز والسلالات المختلفة لصفاتها الخاصة داخل أفراد النوع الواحد . وتترتب ظاهرة قوة المحافظة على ظاهرة التوارث Heredity والتي هي سبب التشابه الموجود بين الأفراد متصلي النسب .

مما سبق يمكن تعريف علم الوراثة بأنه العلم الذي يبحث في أسباب التشابه والاختلاف بين الأفراد متصلي النسب ، كما أنه يبحث في أسس التوارث ومنشأ التصنيف وتقصي العلاقة بين الأجيال المتعاقبة للكائنات الحية ، وهذا مايعرف بعلم الوراثة الكلاسيكي Classical G. ،

إلا أنّ التقدم الهائل في العلوم الوراثية وارتباط هذا العلم بغيره من العلوم الأخرى قد أضاف بُعداً جديدا لتعريف علم الوراثة الحديث ، فقد امتد هذا التعريف ليشمل كل ما هو حيّ كطبيعة المادة الحية

وتركيبها الكيميائى والجزيئى وطريقة قيادة المادة الوراثية للعمليات الحيوية داخل الكائن، وطريقة تغير هذه المادة وتطورها ، أى هو العلم الذى يبحث فى معرفة أسرار الحياة وطريقة السيطرة عليها لصالح بنى الانسان .

تعريف الهندسة الوراثية : Genetic Engineering

الهندسة الوراثية هى أحد فروع علم الوراثة ، وهى تهدف إلى إعادة تشكيل صور الحياة عن طريق إعادة تنظيم مادتها الوراثية على أسس جزيئية لتخليق أشكال جديدة من الكائنات الحية . وهى وسيلة تكنولوجية حديثة لتخطّى حواجز الأنواع ، وذلك عن طريق تحريك جينات مرغوبة من نوع ما إلى آخر ، ليس من الممكن ، تحت الظروف الطبيعية ، أن يحدث بينهما تزاوج جنسى يترتب عليه تكوّن نسل حى وخصب . وتمثل تقنيات الدنا المطعم Recombinant DNA Technology مثل تداول الجينات Gene manipulation ، وأنظمة الازدراع الجينى Gene cloning ، والاستزراع الخلوى والنسيجى Cell and Tissue culturing أهم الوسائل المستخدمة فى الهندسة الوراثية .

البـــاب الثانـــى

البناء الكيميائى والفيزيـــائى للمـادة الوراثية

The chemical and physical basis of genetic material

(الدنا DNA والرنا RNA)

مقـــــدمة :

عند استعراض تاريخ علم الوراثة نجد أن محور الاهتمام قد تركز — منذ حقبة الأربعينات من هذا القرن — فى البحث عن طبيعة المادة الوراثيـة من الناحية الكيميائية والفيزيائية . ولقد بذل علماء الوراثة والكيمياء الحيويـة جهودا جبارة فى الكشف عن خبايا وأسرار هذه المادة ، حتى كللت جهودهم بالنجاح عندما اكتشف العالمان واطسون وكريك التركيب البنائى وطريقـــة تناسخ الدنا DNA عام ١٩٥٣ . ومنذ ذلك الوقت أُعطِى المزيد مـــن الدراسات المستفيضة لمعرفة وظيفة وعمل الجينات . وقد تركز الاهتمام منـذ البداية على استخدام الكائنات الدقيقة بدائيات النوى Prokaryotes مثل البكتريات والفيروسات البكتيرية ، نظرا لبساطة تركيبها وسهولة التعامـل مع جهازها الوراثى بالمقارنة بالجهاز الوراثى المعقد للكائنات ميزات النوى.

وقد اقترح علماء الوراثة الكيميحيوية — منذ البداية — أنّ وظيفة الجينـات تنحصر فى السيطرة على تخليق البروتينات فى الخلية . ولقد ثبت بما لا يـــدع مجالا للشك أنّ معظم الجينات محمولة ضمن جزئ الدنا ، ولذلك فقـــد أعطوا اهتماما خاصا للطبيعـة الكيميائية للجيـــــــــن .

خصائص المادة الوراثيـــة :

توجد مجموعة من الخصائص يجب أن تتوفر لجزيئات بيولوجية معينة لكـى تتأهل هذه الجزيئات لأنْ تكون المواد التى فى قدرتها نقل المعلومات الوراثية

من جيل الى جيل • وتُستَمد هذه الخصائص مباشرة مما هو معروف عن استمرارية الحياة ونشأة الانواع وعملية التباين عن طريق قوى التطور •
وتتلخص هذه الخصائص فى النقاط التاليـة :

١ـ يجب أن تشتمل المادة الوراثية على معلومات بيولوجية مفيد تُحْتَفظ بها فى شكل ثابت • أى تكون المادة الوراثية على درجة عالية من الثبات شبه المطلق •

٢ـ يجب أن يكون فى مقدور المادة الوراثية أن تتناسخ وتتضاعف وتنتقل بدقة شبه مطلقة من خلية لاخرى ، أو من جيل إلى جيل •

٣ـ يجب أن تكون المادة الوراثية قادرة على التعبيرعن نفسها ، أى قادرة على قيادة عمليات الايض metabolism فى الخلية • ويترتب على ذلك أن تتخلّق الجزيئات البيولوجية الاُخَر ، ومن ثم فان الخلايا والكائنات سوف تتكون وتبقى • وتتطلب هذه الخاصية توفر نظام دقيق قادر على ترجمة المعلومات المُشَفَّرة (المسجلة بطريقة شفرية) فى المادة الوراثية إلى صورة معبرة • وهنا يهمنا أن نميز — ومنتهى التحديد — بين جزىء قادر على تخليق فقط جزيئات طبق الاصل من نوعه ، وجزىء آخر قادر على تخليق جزيئات من نوعيات جديدة •

٤ـ يجب أن تكون المادة الوراثية قادرة على التباين variation وان كان ذلك نادرا • ولاتتعارض هذه الخاصية مع الخاصية الاولى للمادة الوراثية وهى الثبات شبه المطلق • وحقيقة الأمر أنه ليس هناك من سبب يمنع من أن تكون المادة الوراثية مَمْهورة بقدرة ذاتية على التباين • ويمكن افتراض وجود نظام وراثى معين يحفظ

المعلومات البيولوجية بصورة مطلقة من جيل إلى جيل ، إلاّ أن اللحن السائد فى تاريخ التطور العضوى للحياة يتطلب أن تكون المادة الوراثية قادرة على التغير والتبدل ، وإن كان ذلك حدثا نادرا .

ولقد بينت الدراسات الوراثية أن هناك مصدرين للتباين فى النظم الوراثية المعروفة هما الطفرة mutation والاتحادات الجديدة (التوليفات الوراثية الجديدة) recombinations . والطفرة تغير من طبيعة المعلومات الوراثية التى تنتقل من الآباء إلى النسل ، ومن ثمّ ، فهى تقدم نسبيا نهجا فعّالا لاستحداث التباين ، فإذا جاء التغير ضارا (كما هو الحال عادة) فقد يكون النسل مُعوّقا بوضوح ، وقد يموت عقب الولادة مباشرة ، وإلاّ فقد يضيف للعشيرة جينا ضارا . أما التوليفات الوراثية الجديدة فهى وسيلة معتدلة لاستحداث التباين . وهى تحدث من خلال إحدى طرق التكاثر الجنسى المعروفة ، وهذه تشمل الخلط الدقيق لمعلومات الآباء الوراثية بطريقة تؤدى إلى تكوين توافيق جينية جديدة ، وهذه بدورها تُورّث للنسل .

التركيب الكيميائى والفيزيائى للدنأ والرنأ :

حتى نتمكن من دراسة خصائص التركيب الكيميائى والفيزيائى للمادة الوراثية ، يجب أن نستعرض الحقائق الجزيئية من مضمون وراثى . وقبل الدخول فى ذلك ، نعرض بعض المصطلحات الكيميعضوية التى لها علاقة بالبناء الكيميائى للمادة الوراثية ،كما يتضح من الجدول (١ — ١).

(٢ ــ ١) : بعض المصطلحات من الكيمياء العضوية التى لها علاقــــة بالتركيب الكيميائى للمادة الوراثيــــة ٠

حلقة بنزين ،مع علامة ═══ تبين وجود روابط زوجية ،حيث يوجـــد ذرتان من الكربون تتقاسمان بينهما ٤ الكترونات ببين ناحية اليسار رسم مميز مختصر لحلقة بنزيـــن ٠

Methyl group	مجموعة ميثيل	$-CH_3$
Hydroxyl group	مجموعة هيد روكسيل	$-OH$
Keto group	مجموعة كيتـــو	$=O$
Aldehyde group	مجموعة ألد هيـــد	$-\overset{H}{C}=O$
Carboxyl group	مجموعة كربوكسيـــل	$\overset{O}{\overset{\Vert}{C}}-OH$

ذات خاصية حمضية (ـك أ أ)

مجموعة أمين amino group ،ذات خاصيــــة قاعدية (ــن يد $^+$ ٣) ٠ — $-NH_2$

Covalent bond رابطة تساهمية ،وهى رابطة قوية تتكون عندما تتقاسم ذرتان زوجا من الالكترونات بينهمـــا ٠

Hydrogen bond رابطة هيد روجينية ،وهى ذات قوة تجاذب ضعيفـــة بين ذرة سالبة كهربيا (قابلة للالكترون ،عادة ن أو أ) وذرة هيد روجين مرتبطة تساهميا مع ذرة ثانية سالبـــة كهربيا ،(عادة أ ــيد أو ن ــيد) ٠

Hydrolysis تميؤ ،معناه تفكك جزئ كبير إلى اثنين أو أكثر مـــن الجزئيات الأصغر بإضافـــة المــــاء ٠

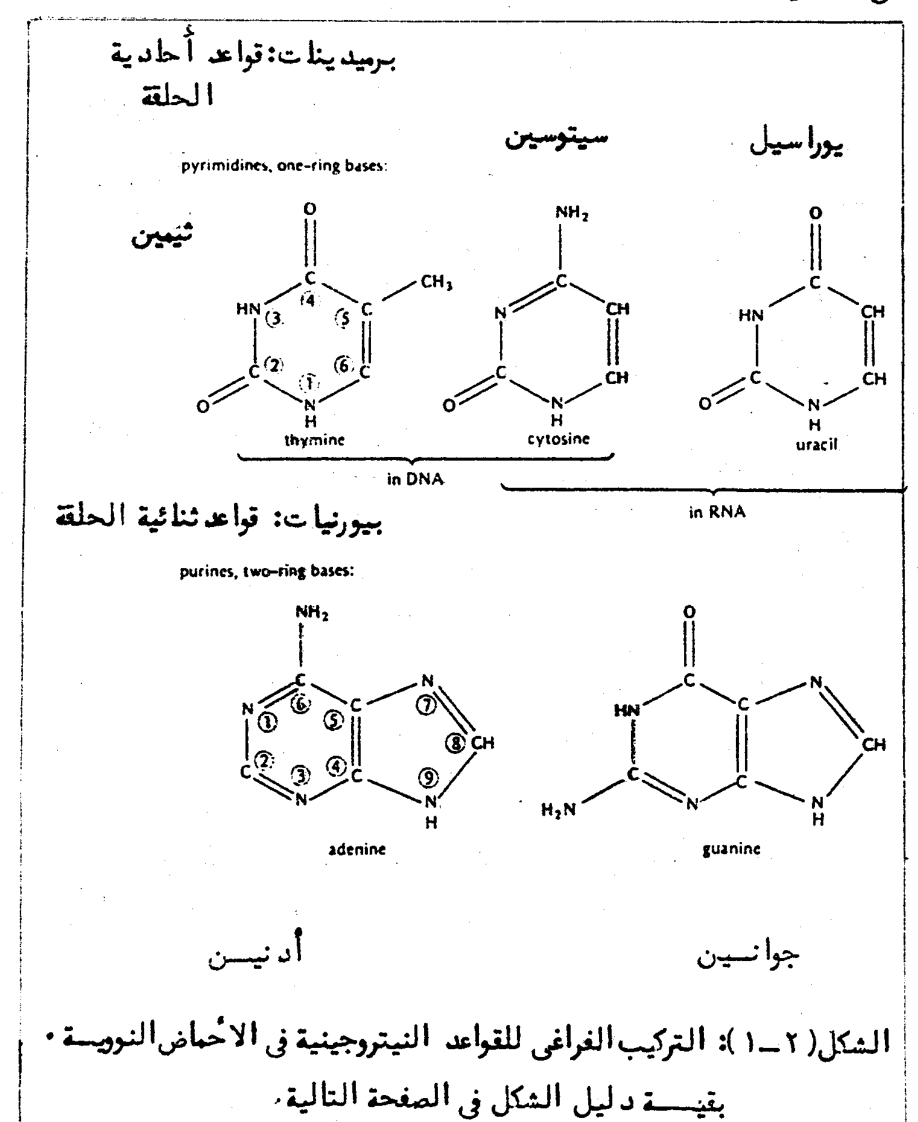
متعددة النوتيدات: The polynucleotide chain

يتركيب كل من الدنأ أو الرنأ من نوعين مختلفين من القواعـــــد النيتروجينية : البيورينات Purines ،والبيريميدينات Pyrimidines ويعتبر الادنين (أ=A) Adenine والجوانين (ج = G) Guanine أكثر البيورينات انتشارا ،كما أن السيتوسين (س= C) Cytosine والثمين (ث= T) Thymine هما أكثر البيريميدينـات شيوعا • ومبين فى الشكل (٢ـ١) التراكيب الفراغية لهذه القواعـــــد • والثيمين لايوجد فى معظم أنواع الرنأ ،ونجد بدلا منه اليوراسيل (ى=U) Uracil وهو من البيريميدينات أيضا • وعلاوة على ذلك يوجد أحيانا أشكال مُحَوَّرة لهذه القواعد (مثلا سيتوسين خماسى الميثيل) لاسيما فـــى بعض الطرز المتخصصة من الرنأ •

وتحتوى البيورينات والبيريميدينات على العديد من الروابط الثنائيـــة المتآلفة • ويكون للجزيئات المحتوية على روابط من هذا النوع قدرة كامنـــة للتواجد فى عدد من الصور الكيميائية المختلفة ،وذلك لكون ذراتها مـــن الهيدروجين تتمتع بقدر ما من حرية الحركة • وفى جزئ كهذا تتمكن ذرة الهيدروجين ــ مثلا ــ من التحرك بعيدا عن مجموعة أمين (ــ ن يد ٢) Amino group تاركة مجموعة إمين (ــ ن يد) Imine وشحنـــة سالبة خالصة ضمن النظام الحلقى المتآلف للجزئ • مثل هذه التذبذبـات تسمى التحورات المتشهابة tautomerics ،أما التراكيب الجزيئيـــة المختلفة التى تنتج فتسمى المتشابهات المتحورة Tautomers.

ويبدو أنه تحت ظروف فسيولوجية معينة غالبا ما تكون أشكال البيورينات والبيريميدينات موجودة بصورة ثابتة ،أما الاشكال المتشابهة المتحـــورة لهـــذه القـــواعد الحلقية والمسمـــاة توتوميـــرات ،

فنادراً ما تحدث ،أو بمعنى آخر فان هذه القواعد تظل ثابتة كيميائيـــا وبشكل متحور واحد فى أغلب الاوقات رغم أنها تحتوى على روابط غير ثابتـــة بدرجة كافية . هذا الثبات هو — دون شك — خاصية وراثية على قدر كبيـــر من الاهمية .



الشكل(٢ـ١): التركيب الفراغى للقواعد النيتروجينية فى الاحماض النوويـــة .
بقيـــة دليل الشكل فى الصفحة التالية .

البيريميدينات ، قواعد أحادية الحلقة :

تابع دليل الشكل ٢ ــ ١): ثيمين (ث) وزنه الجزيئى = ١٢٦٫١٢ دالتـــــون

سيتوسين (س) وزنه الجزيئى = ١١١٫١٠ دالتـــــون

يوارسيل (ى) وزنه الجزيئى = ١١٢٫٠٩ دالتـــــون

البيورينات ،قواعد ثنائيـة الحلقة :

أدنين (أ) وزنه الجزيئى = ١٣٥٫١٣ دالتـــــون

جوانين (ج) وزنه الجزيئى = ١٥١٫١٣ دالتـــــون

وتسطيع البيورينات والبيريميدينات أنْ تُكوّن روابط كيميائية مع سكـــرات البنتوز (خماسية ذرة الكربون) ،ويرمز لذرات الكربون فى السكرات ب ١َ ،٢َ ،٣َ ،٤َ ،٥َ . وتصبح ذرة الكربون رقم ١َ فى السكر مرتبطـة بذرة النيتروجيـــن فى الموقع رقم ١ فى البيريمدين ،أو بذرة النيتروجين فى الموقع ٩ للبيوريـــن . والجزئ الناتج (من ارتباط السكر بقاعدة نيتروجينية) يسمى نوسيـــــدة Nucleoside (الشكل ٢ ــ ٢) ،وهذه تعمل كمادة التفاعل الأولية لتخليق الـ د ن أ . ويدخل سكر البنتوزدى أوكسى ريبوز ضمن المكونات الأساسيـــة للدن أ ، أما فى الـ رن أ فإنّ السكر هو الريبوز وليس الدى أوكسى ريبـــوز ، والفرق بينهما هو أن الريبوز يحتوى على ذرة أوكسجين إضافية فى الموقع ٢َ (أنظر الشكل ٢ ــ ٢ أ) .

ويلزم للنوسيدة قبل أن تصبح جزءا من الـ د ن أ أو الـ رن أ أن تتحـد مع مجموعة فوسفات لتكوّن نوتيدة nucleotide (الشكل ٢ ــ ٣) ،أو بمعـنى أدق،نوتيدة دى أوكسى ريبوزية ،أو نوتيدة ريبوزية . والنوتيدات المحتويـــة على مجموعة فوسفات واحدة تسمى نوسيدات أحادية الفوسفات ومثال ذلـــك ريبونوسيدة الأدنين أحادية الفوسفات (AMP) . ويمكن للنوتيدات أن تحتـوى على مجموعتين أو ثلاث مجموعات من الفوسفات (مثل الأدنين ثنائى الفوسفات

ADP ،والادنين ثلاثي الفوسفات ATP• والنوسيدة ثلاثية الفوسفات هي المادة الأولية التي تلزم لتخليق البروتين (كما سنوضح ذلك عند مناقشة هذا الموضوع في باب وظيفة المادة الوراثية والشفرة الوراثية) •

وببساطة ،فان الدنا أو الرنا يتكون من سلاسل طويلة من النوتيدات المتبلمرة تسمى كل منها سلسلة متعددة النوتيدات Polynucleotide chain وتشترك مجموعة فوسفات واحدة من نوتيدة مولدة ثلاثية الفوسفات عند تكوين الجزئ المتبلمر • ومجموعة الفوسفات هذه التي ترتبط بذرة الكربون رقم ٥َ من سكر البنتوز في نوتيدة ما (انظر الشكل ٢ـ٤) ، تصبح كذلك مرتبطة كيميائيا بذرة الكربون رقم ٣َ من السكر الموجود في نوتيدة أخرى مجاورة ، وهكذا دواليك (الشكل ٢ـ٤) ، وتكون المحصلة هي تكوين سلاسل طويلة من روابط الفوسفات ٥َ ـ ٣َ التي تربط النوتيدات على طول الجزئ المتبلمر • وروابط الفوسفات هذه تعرف بروابط الاستر التساهمية covalent bonds ،وهي روابط غاية في القوة • أما بقايا الفوسفات (فو أ٤) على طول السلسلة فتكون حمضية مما أدى الى التسمية حمض نووى ، ولو أنها في العادة تكون متعادلة لدرجة يمكن اعتبار الجزئ ملحاً •

وبمجرد تكوين العمود الفقرى (من السكر والفوسفات) ،فانّ موقع القواعد النيتروجينية في حمض نووى ما يكون ثابتا تماما • فتكون كل قاعدة مرصوصة فوق التالية على شكل عمود من العملات المعدنية ،والمسافة بين القاعدة وجارتها ٣,٤ أنجستروم (أنظر الجدول ٢ـ٢) لمعرفة الوحدات الفيزيائية •

شكل (٢ـ٢) :
(أ) نوسيدة أدينوسين وهى بادئة رن أ ٠
(ب)نوسيدة ٢ـ دىأوكسى أدينوسين وهى بادئة د ن أ ٠

شكل (٢ـ٣)
نوتيدة دىأوكسى أدينوسين ٥َ أحادية الفوسفات، وهى أيضا بادئة للـــــ د ن أ ٠

5'-3' phosphate linkage

Base

Base

قاعدة بيورين أو بيريميدين

قاعدة بيورين أو بيريميدين

A Nucleic Acid

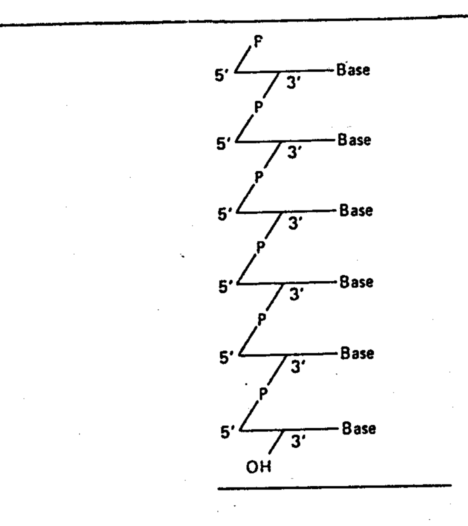
A T G G C

—P—S—P—S—P—S—P—S—P—S—P—

شكل (٢ـ٤) : سلسلة متعددة النوتيـــــدات، أو خيط مفرد مـــــــن الــــــدنا .

وحيث أنّ البيورينات والبيريميدينات تكون بالضرورة مفلطحة ، أى تراكيب ثنائية الابْعاد ،فليس هناك تداخل كيميائى مُجَسّم بين القواعد المرصوصة . وبالتأكيد فإنّ الروابط الضعيفة تتكون بين القواعد المرصوصة مما يزيد من ثبات الجزئ .

وتركيب السلسلة متعددة النوتيدات الموضح فى الشكل السابق يمكن اختصاره كما هو موضح فى الشكل (٢-٥) التالى :



شكل (٢-٥) : رسم مختصر لمتعددة نوتيدات يبين التركيب المُسْتَقطِب النهاية 5'-P فى الطرف العلوى والنهاية 3'-OH ناحية الطرف السفلى - حيث يعطى نفس القطبية كما هو موضح فى الشكل السابق .

جدول (٢ــ٢) : وحدات الطول والكتلة (الوزن) ٠

الطول :

١ أنجستروم (A) = ١٠ $^{-8}$ سم = قطر نواة ذرة الهيدروجين
١ نانومتر (nm) = ١٠ أنجستروم
١ ميكرون (μ) = ١٠٠٠ نانومتر
١ ملليمتر (mm) = ١٠٠٠ ميكرون
١ متر (m) = ١٠٠٠ ملليمتر

الكتلة :

١ دالتون Dalton = كتلة ذرة هيدروجين واحدة
= ٣٢ر٣ × ١٠ $^{-24}$ جرام

فالوحدات المتجاورة من القاعدة والسكر تكون ممثلة بالخطوط المتوازية التي تشكل زاوية قائمة مع المحور الطولي للجزئ ٠ أما الروابط الفوسفاتية التساهمية ٥َ ــ٣َ فتكون ممثلة بالخطوط المائلة الممتدة من المواقع الوسطى (٣َ) إلى المواقع الطرفية (٥َ) لجزئيات السكر المتجاورة ٠ ويؤكد هذا الاسترجاع لمتعددة النوتيدات حقيقة هامة عن خواص هذه الجزيئات وهي أنها مُسْتَقَطبة (polarized) التركيب بمعنى أن طرف الهيدروكسيل (أيد ــ٣َ) وطرف الفوسفات (فوــ٥َ) يمكن التعرف عليهما لأى سلسلة ٠ وفي الرسم السابق يوجد الطرف فوــ٥َ عند القمة ولكن من الواضح أنه يمكن إعادة رسم الجزئ نفسه بحيث يكون الطرف أيد ــ٣َ عند القمة ٠

وقد أتخذت السلاسل متعددة النوتيدات مفردة الخيوط كمادة وراثية في بعض الغيروسات • وقد أمكن حتى الآن تعريف خمسة أنواع من الغيروسات التي تحتوى كروموسوماتها على خيوط مفردة من الـ د نأ ،كما أن أغلب الغيروسات المحتوية على رنأ ، وبضمنها فيروسات الانفلونزا وشلل الأطفال Polio المعروفة ،تحتوى على خيط مفرد من الـ رنأ • ويجب ألاّ نخلط بين الأشكال من الـ د نأ أو الـ رنأ مفردة الخيوط وبين الأشكال ذات الحلزون المزدوج d.helix من الـ د نأ الأكثر شيوعا والتي سوف توصف في الجزء التالي •

الحلزون المزدوج : The Double Helix

اقترح واطسون وكريك Watson & Crick ـ اللذان فازا بجائزة نوبل عام ١٩٦٣ أنّ الـ د نأ يوجد أغلبه في صورة حلزون مزدوج d.helix ذى خواص مميزة للخاية • وقد بنيا فرضهما هذا على العديد من المعلومات الهامة التي أيدتها أبحاث الآخرين وهي :

(١) بالرغم من أن البناء الأولى لسلسلة مفردة متعددة النواتيدات كالمصوره في الشكل (٢ـ٤) كان معروفا في ذلك الوقت،إلا أنه كان يعتقد أنّ أغلب الـ د نأ الطبيعى لايوجد في سلاسل مفرده • لكن يبدو أن سلسلتين أو أكثر تتداخلان بطريقة ما مع بعضها البعض• وقد وجدت الجزيئات الضخمة الناتجة متميزة بالطول والرفع وثابتة لدرجة تسمح لها عند وجودها في الماء أن تكوّن محاليل شديدة اللزوجة •

(٢) أثبت شارجاف Chargaff أنه عندما يُعَرَّض د نأ من نوع ما إلى التميوء بالدرجة التي تسمح باطلاق مكوناته من البيورين والبيريميدين ، فإنّ الكمية الكلية من الأدنين الناتج تساوى دائما الكمية الكلية الناتجة

من الثيمين (أ = ث) كما هو واضح من العمودين الثالث والرابع من الجدول (٢ـ٣) . وبالمثل فان الكمية الكلية من الجوانين (ج) تساوى دائما الكمية الكلية للسيتوسين (س) ، أى (ج =س) ، كما هو مبين فى العمودين ٥ و ٦ من نفس الجدول . وبمعنى آخر ، فان قاعدة شارجاف Chargaff توضح أنه "فى جزيئات الـ د ن أ الطبيعة ، النسبة بين القواعد $\frac{أ}{ث}$ هى دائما أقرب ما تكون للواحد الصحيح ، وهذا أيضا هو الحال للنسبة $\frac{س}{ج}$ ".

(٣) درست فرانكلين ـ المعاصرة لكل من واطسون وكريك ـ طُرُز انكسار الأشعة السينية (أشعة X) المنتجة من خيوط معزولة للـ د ن أ ، وقد أوضحت هذه الصور أنّ الخيوط تحتوى على جزيئات حلزونية غاية فى التنظيم . ولمعرفتها المسبقة بأن الـ د ن أ يتركب من سلاسل متعددة النوتيدات ، فقد أدركت أنّ اثنتين أو أكثر من هذه السلاسل يجب أن تكون إحداهما مُتحلزنة حول الأخرى فى شكل لولبى لتُشَكِّل التركيب الثانوى لجزىء الـ د ن أ الضخم . (الشكل ٢ـ٦) .

شكل (٢ـ٦) : صورة انكسارات أشعة اكس لجزيئات DNA والتى أدت الى معرفة التركيب الحلزونى المزدوج .

جدول (٢ــ٣) : المواصفات الجزيئية للقواعد (كجزيئات من مركبات نيتروجينية لكل ١٠٠ جرام من ذرات الفوسفات في محلول متميئ من الـ د ن أ من مصادر مختلفة).
(عن شارجاف ودافيدسون ١٩٥٥).

الكائن	النسيج	أدنين	ثيمين	جوانين	سيتوسين	(أ + ث) / (ج + س)
بكتريا القولون	—	٢٦ر-	٢٣ر٩	٢٤ر٩	٢٥ر٢	١ر٠٠
ديبلوكوكس نيمونيا	—	٢٩ر٨	٣١ر٦	٢٠ر٥	١٨ر٠	١ر٥٩
بكتريا السل	—	١٥ر١	١٤ر٦	٣٤ر٩	٣٥ر٤	٠ر٤٢
الخميره	—	٣١ر٣	٣٢ر٩	١٨ر٧	١٧ر١	١ر٧٩
قنفذ البحر	الحيوان المنوى	٣٢ر٨	٣٢ر١	١٧ر٧	١٨ر٤	١ر٨٥
الجرذ	نخاع العظم	٢٨ر٦	٢٨ر٤	٢١ر٤	٢١ر٥	١ر٣٣
الانسان	الغدة التيموسية	٣٠ر٩	٢٩ر٤	١٩ر٩	١٩ر٨	١ر٥٢
الانسان	الكبد	٣٠ر٣	٣٠ر٣	١٩ر٥	١٩ر٩	١ر٥٣
الانسان	الحيوان المنوى	٣٠ر٧	٣١ر٢	١٩ر٣	١٨ر٨	١ر٦٢

وقد افترض واطسون وكريك — فى محاولة لتوضيح شكل هذا الجزىء الضخم الفرضية البسيطة ، "وهى أنّ السلستين متعددتى النوتيدات تُكَوِّنان معاً حلزونا مزدوجا أو جزيئا مزدوجا ." وقد أجريا محاولات لتجسيم هذا الحلزون مستعملين نماذج كروية وعصوية ، جاعلين العمود الفقرى للحلزون من السكر والفوسفات إلى الخارج ، أمّا القواعد فقد كانت مواقعها إلى داخل الحلزون . وقد وُجد أنه عند وضع إحدى السلسلتين متعددتى النوتيدات فى مواجهة الاخرى — وهو التنظيم المقترح باستعمال صور انكسار أشعة اكس القياسية — فإنّ القواعد المقابلة للسلسلتين المتجاورتين يجب أن تكون بمحاذاة بعضها البعض . وهنا جاءت الملاحظة المثيرة لواطسون وكريك ، فقد أدركا أنّ البناء الحلزونى الثابت يمكن أنْ يتكوّن فقط إذا كان الادنين بمحاذاة ومقابلا للثيمين ، والجوانين بمحاذاة ومقابلا للسيتوسين . وفى الحالة الاولى فانّ البناء الجزيئى لكل من الادنين والثيمين مُجَهَّز بطريقة تسمح للروابط ثنائية الهيدروجين أن تتكون بينهما فى الحال (الشكل ٢ — ٨) وفى الحالة الاخرى فقد وجد أن السيتوسين يمكن أن يرتبط بالجوانين بثلاث روابط هيدروجينية (الشكل ٢ — ٨) ومن المنطقى أنّ هذه الروابط تعمل بنجاح على توطيد جزىء حلزونى كبير ، كما تساعد على فهم الخواص الفيزيقية للدنأ الموجودة فى الطبيعة .

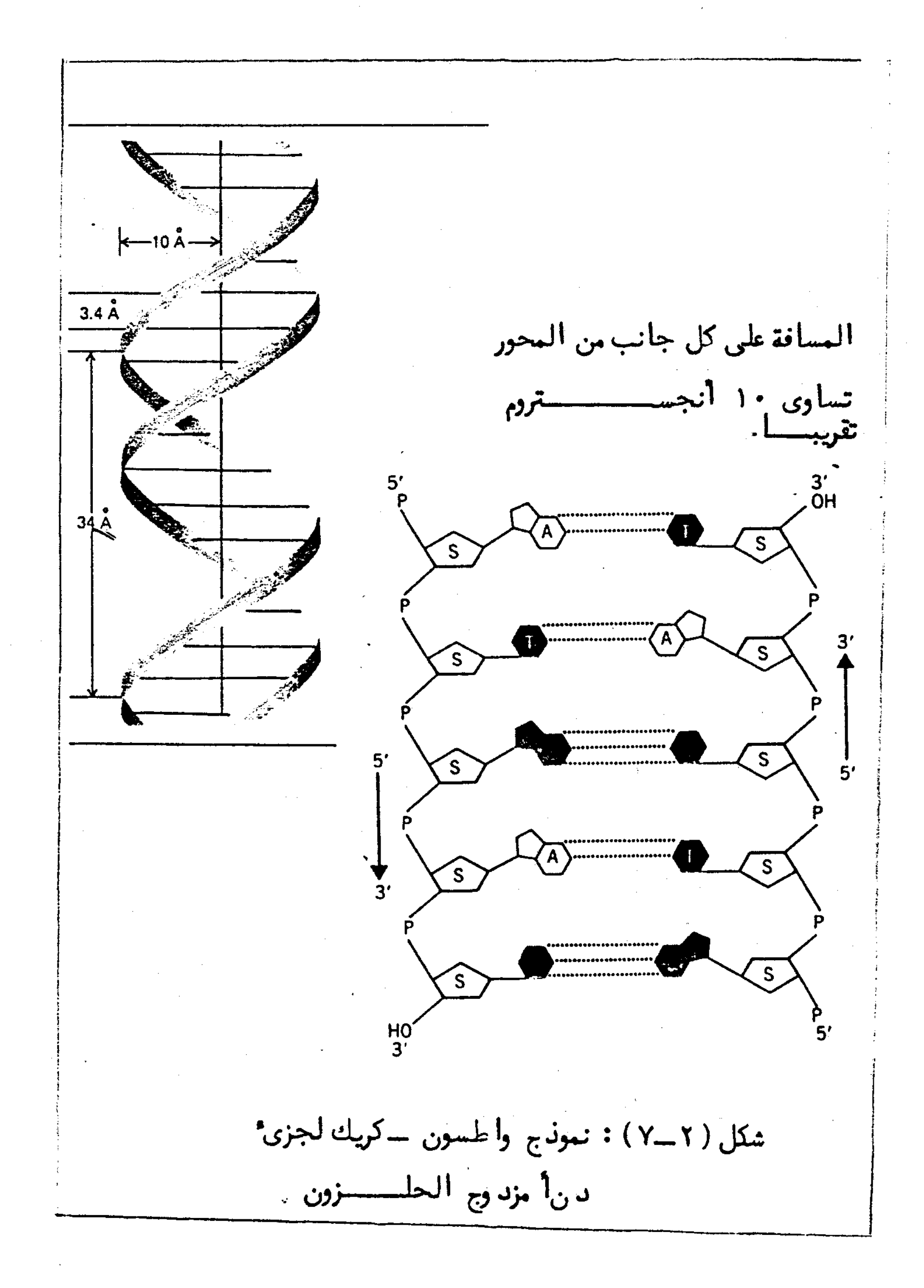
ووقد استطاع كل من واطسون وكريك أن يكوّنا — بافتراض جزىء مزدوج يحتوى فقط على ث — أ و س — ج من أزواج القواعد — نموذجا متسقا قطره حوالى ٢٠ أنجستروم . وقد اكتشفا أنّ أزواجا من قواعد البيورين ستكون كبيرة لتناسب جزيئا كهذا ، فى حين أنّ أزواجا من قواعد البيريميدين ستكون متباعدة فيما بينها لدرجة لا تُمكّن روابط الهيدروجين أنْ تتكون بينهما على الاطلاق . وبمحاولة ربط كل من أ مع س أو ربط ج مع ث ،

فان البناء الحلزونى يصبح أيضا مُشَوّهاً .

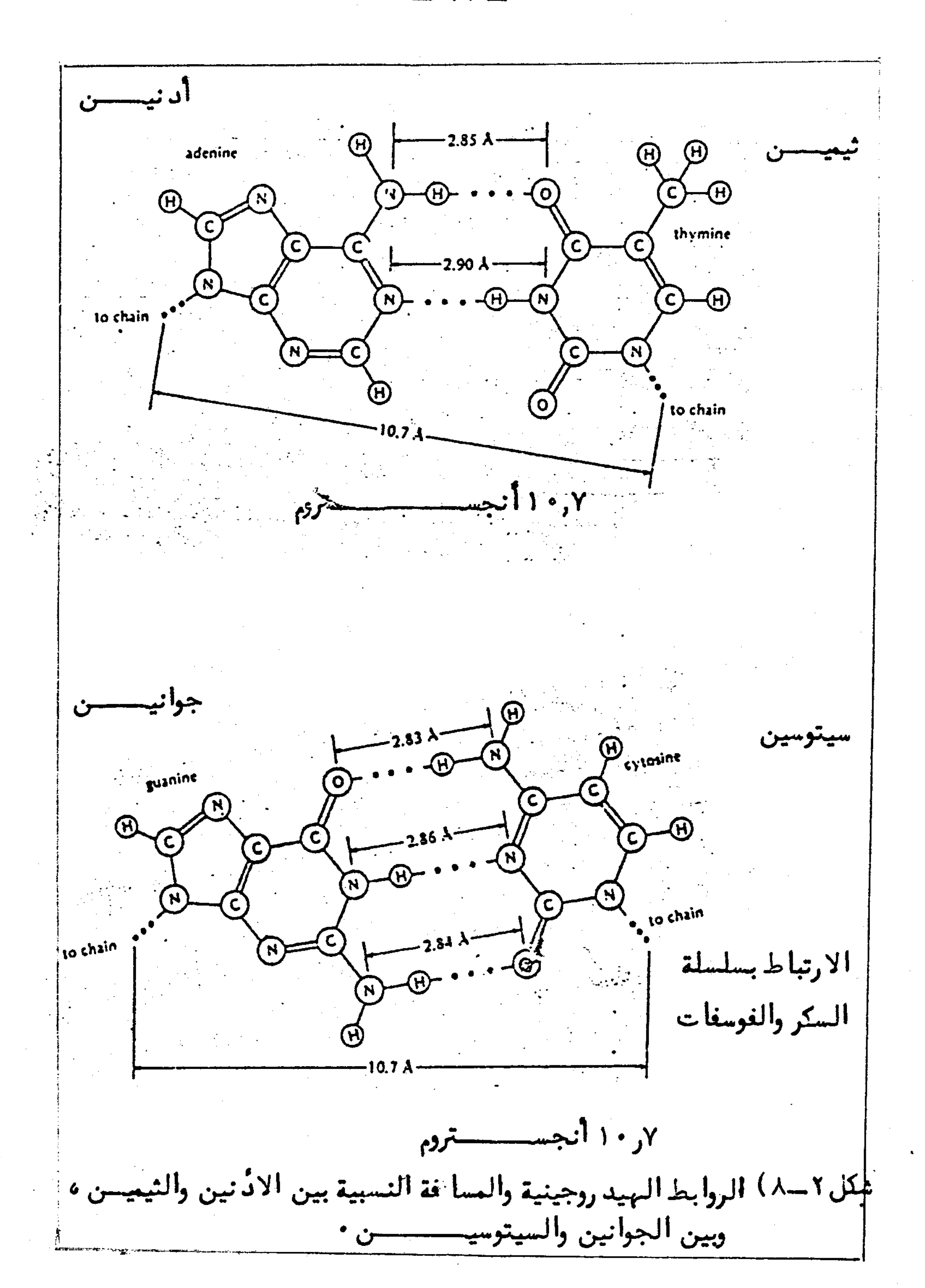
وباختصار ، وعند ما جرِّبت جميع التراتيب الممكنة أصبح واضحا أنّ أزواج ث ـ أ و س ـ ج هى التوافيق الوحيدة التى يمكنها أن تُشَكِّل بنايات ثابتة بروابط هيد روجينية لها الابعاد الجزيئية الصحيحة التى تناسب حلزونا مزد وجا متعدد النوتيدات وذا قطر ثابت يبلغ ٢٠ أنجستروم Å .
ولهذا السبب فقد عُرِّفت أ و ث بأنهما متكاملتان الواحدة مع الاخرى ، وكذلك فقد عُرِّفت ج و س بأنهما متكاملتان الواحدة مع الاخرى أيضا .

وهذا الاستنتاج الذى يتصل مباشرة بقاعدة شارجاف ـ والتى سبق ذكرها ـ يوضح أنّ النسب بين ث/أ و س/ج للد ن أ لاى نوع من الانواع تقترب د وما من الواحد الصحيح (أنظر الجدول رقم ٢ ـ ٣) ولا توجد علاقة ثابتة كهذه لاية مجموعات من القواعد ، ومن ثمّ فإن نموذج واطسون ـ كريك قد عُزِّز منذ البداية ببرهان تجريبى دقيق .

ويصف الشكل (٢ ـ ٧) التركيب الكامل لجزىء الد ن أ المقترح من قِبَل واطسون وكريك ، أما الشكل (٢ ـ ٩) فيوضح نموذجا أكثر تفصيلا للجزىء . وبنموذج كهذا يمكن أن نُحْصِى عشراً من القواعد لكل د ورة كاملة لخيط مُحلزَن متعدد النوتيدات . ويجب أن نذكر فى هذا المجال ـ أنّ المسافة فى سلسلة متعددة النوتيدات من القواعد المرصوصة بشكل عمود من العملات هى ٣,٤ أنجستروم ، ومن ثم فان خيط الحلزون المزدوج يلتف لفة كاملة كل ٣٤ أنجستروم . وبالنسبة للباحث الوراثى فان الارقام الحقية تكون أقل أهمية من الفكرة فى أنّ جزىء الد ن أ المزدوج عبارة عن بناء غاية فى التنظيم مكوّن من جزيئات عضوية ثابتة نسبيا تتحد فى نهج دقيق .



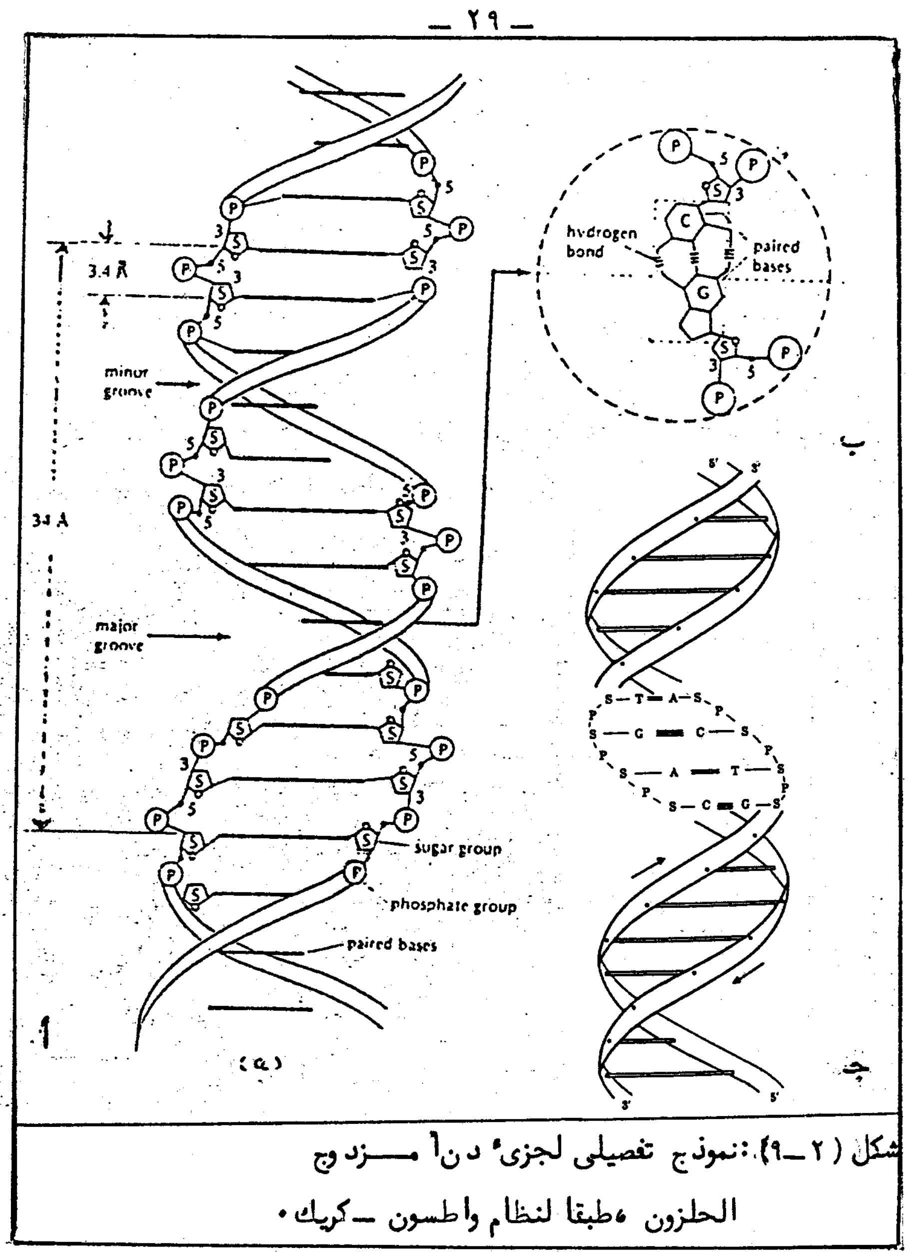
شكل (٢-٧) : نموذج واطسون - كريك لجزئ د ن أ مزدوج الحلزون.



شكل ٢ـ٨) الروابط الهيدروجينية والمسافة النسبية بين الأدنين والثيميـــن ، وبين الجوانين والسيتوسيـــــن ·

ويجب النظر بعين الاهمية إلى أزواج القواعد المتكاملة لملاحظة أنها مرسومة بطريقة مميزة • فمجموعات الروابط الهيدروجينية المناسبة مصفوفة بدقة • وفى جزىء الد ن أ المزدوج فانّ اصطفافا كهذا للقواعد يمكن أن يتم فقط عندما يكون خيطى النوتيدات المتعددة موجهان فى اتجاهات عكسية . وكما أشير إلى ذلك سابقا ، وكما هو موضح فى الشكل (٢ ــ ٥) ،فان متعددة النوتيدات لها طرفان : واحد يدأ ــ ٣َ والاخر فو ــ ٥َ • ونموذج واطسون وكريك يتطلب أنْ يكون أحد الخيطين مُوَجَّهاً فى الحلزون فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ والاخر فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ كما هو واضح من الرسم التخطيطى فى الشكل (٢ ــ ٧) • وعندما أجريت محاولة لبناء حلزون مزدوج باستعمال خيطين متشابهى الاتجاه ،اتضح أن القواعد لا تحاذى بعضها بحيث تسمح بتكوين الروابط الهيدروجينية المطلوبة •

وبالرغم من أنّ فرضية واطسون ــ كريك قد اختصت بجزىء الد ن أ ، الا أنه قد اتضح منذ ذلك الحين أن بعض الغيروسات المحتوية على الر ن أ (كمادة وراثية) ،تكون فيها جزيئات الر ن أ مزدوجة الحلزون • بالاضافة إلى ذلك فانّ أغلب جزيئات الر ن أ مفردة الخيط يُحتَمل أن تحتوى على بعض المناطق ــ على الاقل ــ يكون فيها الخيط منثنيا على نفسه ليكوّن مقاطع قصيرة مزدوجة الحلزون (أنظر الشكل ٢ ــ ٢٥) . وعندما يوجد الر ن أ كحلزون مزدوج ويعمل كمادة وراثية فى الغيروسات فان أغلب ما ذكرناه عن البناء الثانوى للد ن أ ينطبق عليه تماما ،ما عدا أنّ الادنين يتحد بروابط هيدروجينية مع اليوراسيل بدلا من الثيمين •



شكل (٢ — ٩) : نموذج تفصيلي لجزيء د ن أ مـــزدوج الحلزون ، طبقا لنظام واطسون — كريك .

الدراسات التى تثبت أن الدنأ موجود فى الكروموسومات:

تنص نظرية الكروموسومات للوراثة التى وضعها عالم الوراثة توماس هنست مورجان T.H.Morgan (عام ١٩١٧) على أنّ الجهاز المادى للوراثة هو الكروموسومات التى تحمل الجينات فى تنظيم طولى ، وأن كل جين يشغل موقعا ثابتا خاصا به فى كروموسوم معين ، وأنّ مجموعة الجينات المحمولة مع بعضها فى كروموسوم واحد تُكَوّن فيما بينها ما يعرف بالمجموعة الارتباطية ، وهذه تسلك سلوك هذا الكروموسوم فى طريقة انتقالها من جيل إلى جيل ، وأنّ الاتحادات الوراثية الجديدة بين الجينات المرتبطة تتكون نتيجة للعبور الوراثى الذى يحدث أثناء الانقسام الميوزى .

وبناء على هذه النظرية ، تشير كل الحقائق السيتولوجية والأدلة الوراثية المباشرة وغير المباشرة على أنّ الدنأ موجود فى الكروموسومات وأنه هو المكون الأساسى للجينات . ولقد أمكن فصل الكروموسومات من نوى الخلايا وإجراء الدراسات الكيمحيوية عليها ، لمعرفة البناء الكيميائى والتنظيم الجزيئى للمادة الوراثية والتى تكوّن جزءا رئيسيا من هذه الكروموسومات. ولقد بيّنت هذه الدراسات أنّ الكروموسومات الموجودة فى خلايا الكائنات مميزات النوى Eukaryotes تتكوّن أساسا من :

(أ) بروتينات من نوع الهستون Histone proteins.

(ب) حمض الدى أوكسى ريبوز النووى Deoxyribonucleic acid (أو مايسمى اختصارا الدنأ DNA) .

(جـ) حمض الريبوز النووى Ribonucleic acid (أوما يسمى اختصارا الرنأ RNA) .

وفيما يلى الطرق الأولية التى استخدمت فى ذلـــــك :

١ـ التحليل الكيمائى المباشـــر :

فى عام ١٩٤٩ ، تمكن العالمان ميرسكى Mersky ورايـــس Ris من فصل كروموسومات خلايا الغدة التيموسية Thymoid gland للعجول ، وقاما بتحليل هذه الكروموسومات بالطرق الكيميحيوية . ولقـــد بيّنت نتائجها أنّ هذه الكروموسومات تتكون من جزئين ، أحد هما أساسى والآخر ثانــــوى :

المكون الأساسى : تبلغ كميته حوالى ٩٠٪ من المادة الكروموسوميـــة ، ووجد أنه يتكون من ٤٥٪ د ن أ ، و ٥٥٪ بروتين ثقيل من نوع الهستـــون يحيط بالحلزون المزدوج لل د ن أ .

المكون الثانوى : تبلغ كميته حوالى ١٠٪ من المادة الكروموسوميـــة ، ووُجد أنه يحتوى على كمية ضئيلة من ال د ن أ (حوالى ٥ر١ ــ ٦ر٢٪) ، ونسبة أكبر من ال رن أ (تتراوح مابين ٥ر٧ــ ١٤٪) ، وغالبيته العظمـــى من البروتين الثقيل (مابين ٨٠ــ ٩٠٪) .

واستكمالا للدراسة ، فقد وُجِدَ أنّ كروموسومات خلايا الأنسجـــة النشطة فى تخليق البروتين (مثل أنسجة الكبد) ترتفع فيها نسبة المكـوّن الثانوى للكروموسومات حتى تصل إلى حوالى ٥٠٪ ، بينما تنخفض هذه النسبة إلى حوالى ٣٪ فى كروموسومات خلايا الحيوانات المنوية ، حيـث د ورها ضئيل فى تخليق البروتين .

ولقد بيّنت التقديرات الكمية لل د ن أ ثبات نسبته بدرجة عالية فى نـوى خلايا كل الأنسجة ثنائية المجموعة الكروموسومية (٢ن) لأى كائن من أى

نوع من أنواع الكائنات الحية (انظر الجدول ٢—٤) •

ويبين الجدول (٢—٤) أنّ نَوَى الانسجة أحادية العدد الكروموسومى (الحيوان المنوى sperm) بها نصف كمية الد ن أ الموجودة فى نوى الانسجة ثنائية العدد الكروموسومى ، وهذا هو ما يُتوقّع على أساس النواتج الميوزية للجهاز الوراثى •

٢ — التفاعلات الصبغية : (تفاعل فولجين Feulgen reaction)

يُجرى هذا التفاعل بوضع الخلايا الحية فى محلول ١ عيارى من حمض الهيدروكلوريك (HCl) على درجة حرارة ٦٠ ْم لمدة حوالى ١٠ دقائق حتى تتحلل الخلايا تَحلّلا خفيفا • وتؤدى هذه المعاملة إلى هَدْرَجة الد ن أ ،حيث تتكون مجموعة ألدهيد حرة فى جزيئات السكر دى أوكسى ريبوز (deoxyribose sugar) ، وليس فى جزيئات سكر الريبوز (الموجود فى الر ن أ) • وعند إضافة دليل شيف Schiff's reagent (وهو صبغة الفوكسين القاعدية المختزل لونها بواسطة حمض الكبريتوز) يحدث تفاعل صبغى يعطى لونا قرمزيا محمرا • وهذا التفاعل خاص بالد ن أ فقط وليس الر ن أ أو أىّ مكوّن خلوى آخر •

وتبين القياسات الفوتومترية Photometric لكثافة الصبغة ، أنّ هذه الكثافة تتناسب تناسبا طرديا مع كمية الد ن أ الموجود بالخلية . ولقد وُجد أنّ الكروموسومات (وبعض العُضَيّات organelles الخلوية) هى التى تتلوّن ، بينما تبقى بقية الخلية دون تلوّن • وكون بعض العُضَيّات الخلوية يعطى مثل هذه الاستجابة الصبغية دليل على وجود الد ن أ بها — وسوف نتناول ذلك فى باب لاحق (الوراثة خارج النطاق النووى) •

وهذا التخصص الدقيق لتفاعل فولجين فى صبغ الـ د ن أ قد فتح الطريق لاجراء دراسات كمية ضوئية عن طريق قياس كمية الضوء التى تُمتص خلال النوى المصبوغ للخلايا ــ ويعرف ذلك بالتكنيك الفوتومترى الخلوى. Cytophoto-metry وقد أوضحت دراسات كهذه ، أنّ كمية الـ د ن أ ثابتة فى نوى الخلايا ثنائية العدد الكروموسومى (٢ن) لاى كائن . أما نوى خلايا الانسجة ذات التضاعف الكروموسومى (مثل نوى بعض خلايا الكبد) ، فإنّها تمتص كمية من الضوء تتناسب مع عدد مجموعاتها الكروموسومية ، بينما تمتص خلايا الانسجة أحادية العدد (مثل الحيوانات المنوية sperms) كمية من الضوء تعادل نصف مايمتصه نوى الانسجة ثنائية العدد الكروموسومى . وقد أوضحت هذه الدراسات أنّ كمية الـ د ن أ المصبوغة بتفاعل فولجين تتضاعف خلال دور مابين الانقسامين (interphase) فى الدورة الميتوزية ، ثم تتوزع هذه الكمية بالتساوى فى الدور الانفصالى على النواتين الشقيقتين ، وهذا مرة أخرى السلوك المتوقع للمادة الوراثية .

٣ـ امتصاص الاشعة ما فوق البنفسجية UV-absorption :

وجد أنه يمكن ملاحظة وجود الـ د ن أ DNA فى الكروموسومات دون أىّ تحليل كيماوى أو تفاعل صبغى بقياس امتصاص الاشعة ما فوق البنفسجية ، إذ أنّ الحمض النووى يمتص الضوء فى المنطقة ما فوق البنفسجية عند موجة طولها ٢٦٠٠ أنجستروم ، وذلك نظرا للتركيب الحلقى للقواعد النيتروجينية. وقد استعملت الميكروسكوبات ذات الاشعة ما فوق البنفسجية Ultraviolet microscopes والتى يمكنها إعطاء مثل هذه الموجة فى إثبات وجود أو غياب الاحماض النووية فى مختلف التركيبات الخلوية .

وقد أوضحت الدراسات الأساسية التى قام بها كاسبرسون Casperson عام ١٩٤١ مدى الاستجابة بين امتصاص الأشعة ما فوق البنفسجية فى الكروموسومات وفى الد ن أ DNA. ففى الكروموسومات العملاقة فى الغدد اللعابية ليرقات حشرة الدروسوفلا وجد أنّ الامتصاص الأساسى للأشعة يتم فى الشرائط العرضية القابلة للاصطباغ ، بينما كان الامتصاص ضئيلا جدا فى الشرائط غير القابلة للاصطباغ. وهذه النتائج تؤيّد ما أظهرته الأشعة السينية وتفاعل فولجين بأ نّ معظم الد ن أ DNA موجود فى الشرائط العرضية القابلة للاصطباغ بينما يوجد القليل جدا منه فى الشرائط غير القابلة للاصطباغ.

ويلاحظ أن امتصاص الأحماض النووية للأشعة ما فوق البنفسجية عند موجة طولها ٢٦٠٠ (Å) أنجستروم كان من أول المؤشرات على أنّ الد ن أ DNA ربما يكون هو المادة الوراثية . ففى عام ١٩٤١ أوضح هولاندر وإيمونس (Hollaender&Emmons) أنّ تعرّض الفطريات لموجة بهذا الطول أحدث تغييرات وراثية (طفرات) أكثر بكثير عما نتج من المعاملة بأى موجات بأطوال أُخَر .

٤ـ الهضم الانزيمى للكروموسومات الفرشائية : Lampbrush Chromosomes

قدّمت الكروموسومات الفرشائية (وهى موجودة فى خلايا البرمائيات amphibians كالضفادع) فرصة غير عادية لاختبار التركيب التفصيلى لخيط كروموسومى واحد ، إذ أنّ الثنية الواحدة تظهر تحت المجهر الالكترونى ، أنها تتكون من سلسلتين قطر كل منها يتراوح مابين ١٠٠ـ١٥٠ أنجستروم . وقد قدّم الهضم الانزيمى للأجزاء المختلفة من السلسلة الدليل على احتواء كل سلسلة على الد ن أ DNA . فقد وجدوا أن الانزيمات

الهاضمة للبروتين Proteases والانزيمات الهاضمة للـ ر ن أ (إنزيمات الـ RNases) لا تؤثر على الثّنيّات بينما المعاملة بالانزيمات الهاضمة للـ د ن أ (DNases) تُقَطِّع الثّنيّات والفواصل التى بينها إلى أجزاء مما يشير إلى وجود الـ د ن أ فى هذه الكروموسومات ويُفتَرض معه أنّ جزئ الـ د ن أ DNA فيها طويل وذات تركيب مستمر .

٥ـ التصوير الاشعاعى الذاتى : Autoradiography

من المعروف أنّ النظائر المشعة من الهيدروجين (المعروفة بالتريتيوم Tritium) يمكنها أنْ تتغلغل فى مختلف المواد لتصبح جزءاً منها . فاذا حلّ الهيدروجين المشع (أو الموسوم labelled) محل الهيدروجين العادى فى الثيميدين مثلا فانه حينئذ سيصبح جزءاً من نوتيدة الثيمين فى الـ د ن أ DNA ،ويمكن قياس مدى تغلغله بطرق فوتومترية تسمى بالتصوير الاشعاعى الذاتى Autoradiography. ويتم ذلك عن طريق تعريض الخلايا إلى الثيميدين المحتوى على الهيدروجين الموسوم (tritiated) ،ثم تغطى الخلايا بفيلم خاص حساس، فتظهر بقع سوداء على سطح الفيلم بمجرد تغلغل الثيميدين الموسوم فى الخلايا . وبهذه الطريقة أمكن إيضاح أنّ الكروموسومات فقط هى التى يمكن وسمها إشعاعيا ومتابعة تزايد تغلغل كمية الثيميدين الموسوم مع التخليق الجديد لجزيئات الـ د ن أ ،يمكن معرفة الوقت الذى يتضاعف فيه الـ د ن أ فى الخلايا المنقسمة . وقد وُجِد بهذه الطريقة أن كمية الـ د ن أ أثناء الانقسام الميوزى والانقسام الميتوزى تتضاعف فى دور ما بين الانقسامين (الانترفيز) Intephase . ولايمكننا فى هذا المجال أن نغفل ما أوضحته دراسة تأثير الاشعة السينية على تكسير الكروموسومات والتى أعطت دليلا على أن هذه الفترات التى يتم فيها تخليق الـ د ن أ تتوائم مع الوقت الذى يكون فيه الكروموسوم تركيبا ثنائيا .

الأدلة على أن المادة الوراثية هي الحمض النووى د ن أ DNA:

تشير كل الأدلة المعروفة ، سواء كانت مباشرة أو غير مباشرة على وجود تلازم تام بين الصفات المميزة للـ د ن أ ، والمعلومات المتحصل عليها من التجارب الوراثية والسيتولوجية . وأصبح من المؤكد أن المادة الوراثية فى الغالبية العظمى من الكائنات الحية هى الحمض النووى د ى أوكسى ريبوز Deoxyribonucleic والذى يرمز له بال د ن أ DNA ، كما أنه فى حالة غياب هذا الحمض ، فان الحمض النووى الثانى "حمض الريبوز النووى Ribonucleic acid أو الـ رن أ RNA يكون هو المادة الوراثية . وفيما يلى الأدلة على ذلك :

اولا : أدلة غير مباشرة :

وهذه مبنية على التشابه بين الخواص المفروض توافرها فى المادة الوراثية وبين مميزات وخواص الحمض النووى د ن أ DNA :

(١) إذا كانت الجينات مكونة من الحمض النووى د ن أ DNA ، فان توزيع هذا الحمض لابد وأن يتوازى مع أماكن وجود الجينات فى الخلية وكذلك مع كميتها . وهذه هى الحقيقة المعروفة الآن ، فالـ د ن أ موجود بصورة عامة فى كل الأنظمة الحية الحاملة للمعلومات الوراثية . ففى الكائنات مميزة النوى Eukaryotes يوجد فى الجاميطات فى النوى nuclei وفى الكروموسومات ، كما يوجد خارج النواة فى بعض عضيات السيتوبلازم مثل الميتوكوندريات والبلاستيدات الملونة والخضراء . وفى الكائنات بدائية النوى Prokaryotes مثل البكتريات وُجد أنّ الـ د ن أ هو المكوّن الرئيسى للكروموسوم الحلقى الوحيد ، كما وجد فى الفيروسات باستثناء فيروس موزيك التبغ TMV وفيروس شلل الاطفال وفيروسات الـ رن أ الأخرى .

(٢) أوضحت الدراسات التحليلية الكيميائية أنّ كمية الدنأ فى خلايا الكائنات الراقية ثابتة من نسيج لآخر فى النوع — فيما عدا الخلايا الجنسية والتى تحتوى على نصف عدد الكروموسومات (أحادية المجموعة الكروموسومية) فانها تحتوى على نصف كمية الدنأ الموجودة فى الخلايا الجسمية somatic (ثنائية المجموعة الكروموسومية) • كما أثبتت هذه الدراسات أن كمية الرنأ RNA وكمية البروتين تختلف كثيرا فى خلايا الانسجة المختلفة للنوع الواحد • وعلاوة على ذلك يوجد تلازم واضح وثابت بين كمية الدنأ وبين عدد المجموعات الكروموسومية فى الخلية ، وكذلك بين كمية ومراحل انقسام الخلية • فقد وُجد أنّ كمية الدنأ تتضاعف عند ما تنقسم الكروموسومات تمهيدا لانقسام الخلية • وعند تمام الانقسام وجد أنّ كلا من الخلايا الناتجة تحتوى على نفس كمية الدنأ الأصلية مرة أخرى ، وتظل هذه الكمية ثابتة حتى تعود دورة الانقسام مرة أخرى • ويبين الجدول تقديرات توضح ثبات كمية الدنأ فى خلايا مختلفة للنوع الواحد وكذلك تناسب كميته مع عدد المجموعات الكروموسومية •

جدول (٢ — ٤) كمية دنأ فى خلايا ثنائية وخلايا أحادية لنفس الكائن •

النوع species	خلايا الدم الحمر (٢ن)	خلايا الكبد ٢ن	الحيوان المنوى ن
الضفدع البرى	٧٫٣٣	—	٣٫٧٠
الدجاج	٢٫٣٤	٢٫٣٩	١٫٢٠
سمك الشاد	١٫٩٧	٢٫٠١	٠٫٩١
الانسان	—	١٠٫٣٦	٣٫٢٥

(٣) تتميز المادة الوراثية بثباتها البنائى ، ويستمر هذا الثبات طـول فترة حياة الخلية حتى موتها ، ولقد أثبتت نتائج التجارب العديدة على الد ن أ أن تركيبه البنائى ثابت فى كثير من الانسجة والكائنات الحية المختلفة ، بعكس الحال بالنسبة لحمض الريبونيوكليك (رن أ).

(٤) بافتراض أنّ جميع خلايا الكائن الواحد تحتوى على نفس المعلومات الوراثية ، فإنّ التركيب الكيميائى للمادة الوراثية يجب أن يكون متطابقا تماما من نسيج لآخر داخل الكائن الواحد . وبناء على هذا الاساس فإنّ نسبة القواعد البيورينيـة Purines للقواعد البيراميدينيـة pyrimidines المكونة للد ن أ يجب أن تكون ثابتة فى كل أنسجة الكائن الواحد . وهذه الحقيقة ثبتت من نتائج التجارب التى أجريت على مختلف أنواع الكائنات (أنظر الجدول ٢ ـ ٣ . . . . تحت موضوع الحلزون المـزدوج) .

ثانيا : أدلة مباشرة :

لقد وصفت الأحماض النووية بواسطة العالم ميشر منذ عام ١٨٧٤ ،وقد كان الاعتقاد السائد لفترة طويلة أنّ البروتينات هى المادة الوراثية ،إلا أنّ هذا الاعتقاد قد أخذ يضعف تدريجيا عند ما لاحظ العالم "شونهايمر" عام ١٩٣٨ أنّ د ن أ الخلية ثابت للغاية بالنسبة للبروتينات سريعة التبدّل . وحُسِم الأمر عام ١٩٤٤ لصالح الد ن أ عن طريق تجارب التحول الوراثـى فى البكتريات بواسطة العلماء إيفرى وماكلويـد ومكارثى . كما أن تجـارب ميرسكى و ريس عام ١٩٤٩ قد بيّنت أنّ جميع خلايا الكائن الحى تحتـوى كميات متساوية من الد ن أ، فى حين تحتوى الخلايا المختلفة على كميات ونوعيات متباينة من البروتين ،ومن ثمّ فإنّ ثبات الد ن أ نوعاً وكماً جعله يحظى بكونه

المادة الوراثيـــــــــة .

وفيما يلى بعض من نتائج التجارب العديدة التى تقدم براهين مباشرة تثبت أن الدنا بمفرده يمكنه أنْ ينقل المعلومات الوراثية عبر الأجيـــــال .
وتعتبر البراهين المتحصل عليها من التجارب الوراثية فى الكائنات الدقيقة (البكتريات والفيروسات) من أوئل الأدلة المباشرة على كون الدنا هو المادة الوراثيـــــــة .

١ ـ التحول الوراثى فى البكتريات: Bacterial Transformation

اكتشفت ظاهرة التحول الوراثى فى بكتريات الالتهاب الرئوى Diplo-coccus pneumonia (جريفث ١٩٢٨) . وقد استغلها من بعـــده تلاميذه إيفرى وماكلويد ومكارثى (عام ١٩٤٤) فى إثبات أنّ الدنا هـــو المادة الوراثية . وقبل الدخول فى شرح تجاربهم ونتائجها نعرض لبعـــض خصائص هذه البكـــتريات:

أ ـ توجد بكتريا الالتهاب الرئوى فى شكلين : بعض السلالات تكون ملســاء (S) حيث تغطى خلاياها بأغلفة Capsules جيلاتينية مــــن سكرات متعددة معقدة ، وهى شرسة (virulent) أو معديـــة وتسبب المرض والشكل الآخر تكون خلاياه خشنة (R) خالية من الأغلفة الجيلاتينية وهى غير شرسة (non-virulent) ولاتسبب مرضا ينتهـــى بالوفاة كما هو الحال فى النوع الشـــــرس.

ب ـ تم عزل عدة طرز من النوع الأملس (S) ، حيث أمكن تمييز هـــذه السلالات من بعضها على أساس الاختلافات البسيطة فى التركيـــب الكيميائى للأغلفة الجيلاتينية (نوع السكرات) وذلك بحقنها فى دم الأرنب حيث تتكون أجسام مضادة antibodies تختلف من طراز إلى

آخر ، وبناء على ذلك تميز السلالات بأرقام ،مثلا الطراز IIS,IIIS ،إلخ .

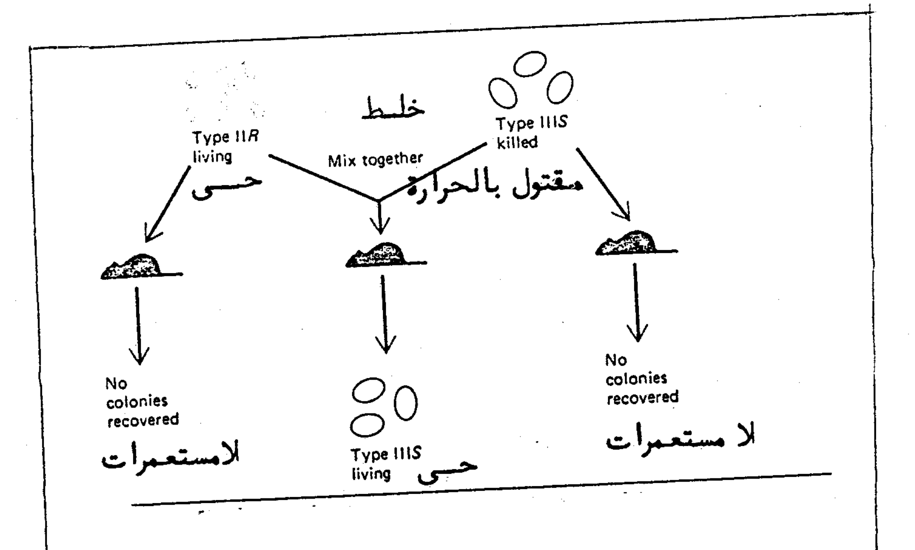
ولقد وجد أن خاصية شكل الغلاف (S)أو(R) تورث عبر الأجيال ومن ثم فهى صفات وراثية .

جـ ـ وجد أن الطفور التلقائى spontaneous mut. يحدث تغييرا فى الاتجاه S ---> R بمعدل خلية واحدة فى كل ١٠^٧ من الخلايا تقريبا . أما الطفور العكسى backmutation من الطراز R--> S فيحدث نادرا وبمعدل أقل بكثير من الطفور الأمامى foreward mut.

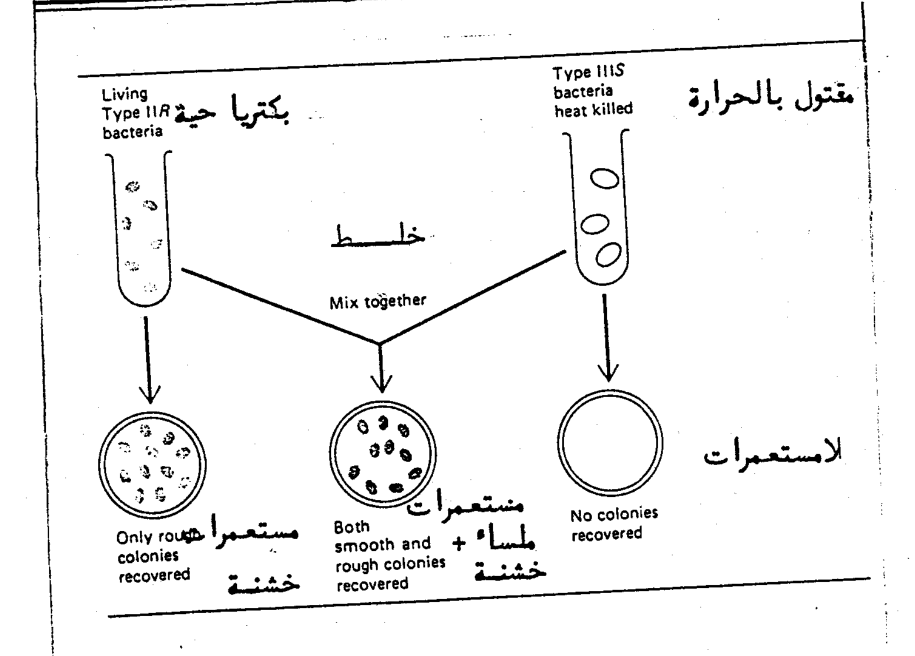
مثال : طراز IIS ---> R ---> IIS .

تجارب جريفث:

أجرى فريد ريك جريفث Griffth تجارب على بكتريا الالتهاب الرئوى من طراز S , R ،حيث حقن فئرانا بعدد قليل من خلايا الالتهاب الرئوى من الطراز R الحى (وهى غيرشرسة) ،وهذه الخلايا نشأت فى الإصل من خلايا طافرة من الطراز IIS ، وقد حقنت الفئران فى نفس الوقت بعدد كبير من الخلايا طراز IIIS مقتول بالحرارة (وهى بذلك فاقدة لخاصيتها الشرسة) . وكانت النتيجة أن أصيبت بعض الفئران بالالتهاب الرئوى . وعند ما أخذت عينات من دم الفئران المصابة وفحصت ،وجد أنها تحتوى على أعداد كبيرة من بكتريات الالتهاب الرئوى الملساء الحية الشرسة من الطراز IIIS . وهنا اعتقد جريفث أن البكتريات IIIS المقتولة قد أعيدت إليها الحياة ،حيث يصعب أن تكون قد نشأت عن طريق طفرة عكسية من خلايا R الحية المحقونة نظرا لكثرتها العددية التى لا تتفق إطلاقا مع معدلات الطفور المعروفة . وكان التفسير النهائى لهذه الظاهرة هو أن بعض الخلايا الميتة من الطراز IIIS قد قامت بإحداث تحول لبكتريات R الحية إلى أخرى ملساء شرسة من



شكل (٢ـ١٠) : تجربة تحول لبكتريا النيموكوكس في الفئران



شكل (٢ـ١١) : تجربة تحول لبكتريا النيموكوكس في الانبوب.

الطراز IIIS من خلال تعايشهما معا داخل دم الفأر (الشكل ٢ — ١٠) .
وقد وجد أن الخلايا من الطراز IIIS المعزولة من هذه الفئران تتكاثر بأصالة لعدة أجيال ، مما يشير إلى أنّ عملية التحوّل قد أثّرت مباشرة على جهازها الوراثي .

تمييز العنصر المُحَوِّل (تجارب إيفري وماكلويد ومكارثي) :

في عام ١٩٤٤ ، أعاد كل من إيفري Avery وماكلويد Macleod ومكارثي McCarty تجارب التحوّل ولكن في الانبوب (in vitro) وليس في الحي in vivo (أي دون استعمال فئران) . فقد وجدوا أنه يمكن أن تنمو معا في أنبوبة الاختبار خلايا من الطراز S مقتولة بالحرارة وخلايا من الطراز R الحية ، وكانت النتيجة النهائية تكوّن خلايا حية شرسة من الطراز S لها غلاف أملس مشابه لغلاف الطراز S المقتول بالحرارة (انظر الشكل ٢ — ١١) .

وفي تجارب أخرى وُجِدَ أنه لايشترط وجود الخلايا الكاملة للطراز S المقتول بالحرارة لاحداث التحول ، بل يكفي إضافة مستخلص هذه الخلايا المقتوله لتتم عملية تحوّل خلايا الطراز R إلى الطراز S في الانبوب . وقد أثارت هذه التجارب تساؤلا عن تحديد ماهيّة المادة الكيميائية في المستخلص المسئولة عن عملية التحول .

قام هؤلاء العلماء باجراء تجارب لاختبار تأثير المكونات المختلفة في مستخلص الخلايا IIIS المقتولة بالمعاملة الحرارية على عملية التحول ، وهذه المكونات كانت تشمل السكرات المعقدة والبروتينات والـ رنأ RNA والـ د نأ DNA ، حيث أضافوا كلّ مكوّن على حده إلى مزارع بكتريا حية من الطراز R . وقد وُجِد فقط أنّ الـ د نأ هو المادة المسئولة عن

التحوّل (أو هو العنصر المُحوّل Transforming element) • وفى عـــام ١٩٤٤ قام نفس العلماء بتحضين خلايا من الطراز R فى وجود مقاطع مـــن الـ د ن أ عالى النقاوة مأخوذة من بكتريا من الطراز III الشرسة ،فحـــد ث التحوّل ، لكن عند ما عُوملت مقاطع الـ د ن أ هذه بانزيم الدينيز DNase المُحلّل للـ د ن أ ،توقفت عملية التحــــوّل •

وقد تأكدت صحة نتائج هذه التجارب باستعمال العناصر المشعــــة ، حيث تمّ وَسْمُ labeling الفوسفور الموجود فى العنصر المُحوّل باستعمال فو^{32} المشع ، ووُجد أنّ مُعدّل تغلغل العنصر المشع فى الخلايا المستقبلة يتناسب طرديا مع معدل البكتريات المتحولات Transformants الناتجة • وهذا يُثْبِت بما لا يدع مجالا للشك أنّ الـ د ن أ هو المادة الوراثية.

وفى أبواب لاحقة (توقيع الخرائط الوراثية) سوف نتناول موضوع التحـــوّل الوراثى فى البكتريات بشئ من التفصيل من وجهة نظر جزيئيـــــة •

٢ — العدوى بالبكتريوفاج : Bacteriphage infection

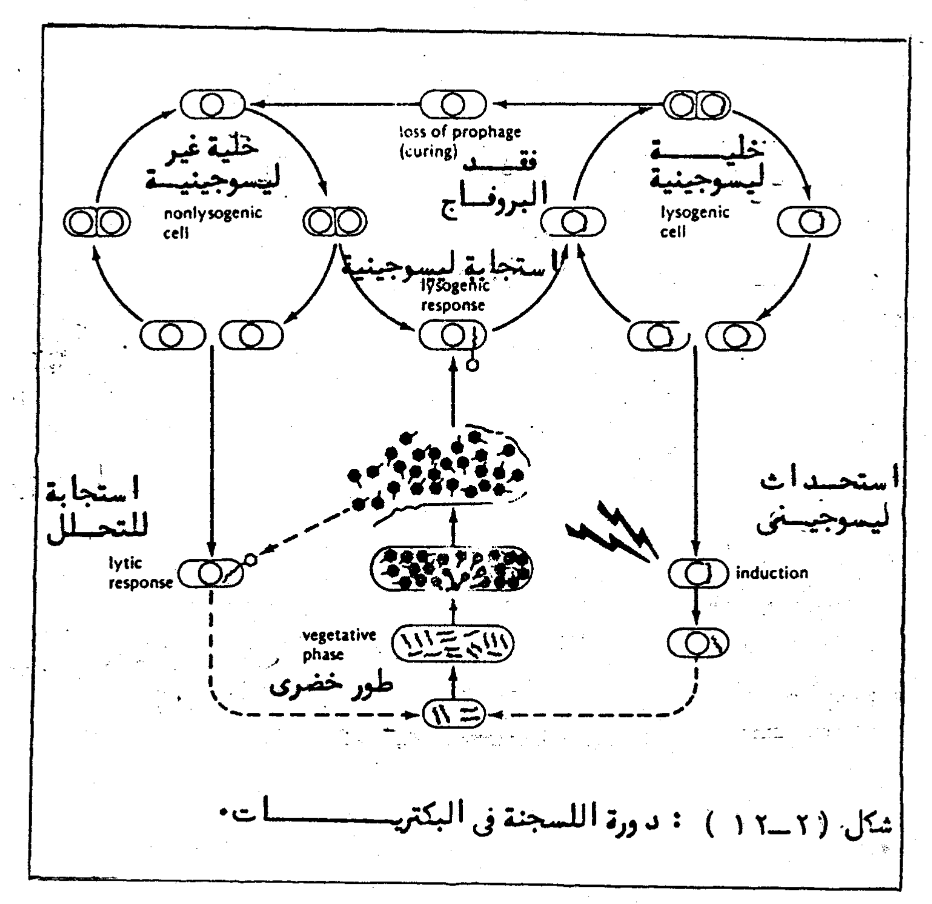
حتى عام ١٩٢٠ كان الاعتقاد أنّ العلاقة بين البكتريا والبكتريوفــــاج هى علاقة بين عائل وطُفيل ،حيث يقوم فيها الفاج بالتكاثر داخل العائـــل البكتيرى محطما ومحللا لـــــــه •

ولكن وجدت علاقة تعاونية جزئية partial symbiosis بين بعــض البكتريات وبعض الفاجات وهى أنّ الفاج قد يوجد داخل البكتريـــا دون أنْ يُسبب لها تحللا ويتكاثرا سويّا ،وتسمى هذه بالبكتريات الليسوجينيـــة Lysogenic bacteria، إلا أنه فى بعض الأحيان تنتهى العلاقــــة التعاونية ويحطم الفاج البكتريا التى تحمله فى داخلها ،ويسبب تحللهـــا وينتج نسلا جديدا • وذلك بعكس البكتريا غير الليسوجينيـــــــة

التى لاتحمل فيروسات بداخلها والتى تتحطم وتتحلل مباشرة اذا حدثت لها عدوى بالفاج .

وتسمى الفاجات التى تكوّن علاقة ليسوجينية مع البكتريا بالفاجات المعتدلة Temperate، بينما تسمى الفاجات التى تسبب عدوى للبكتريا تؤدى إلى تحللها بالفاجات الشرسة Virulent .وقد وجد – فى البكتريا الليسوجينية – أنّ عملية التحلّل تنشأ نتيجة لتبدّل الفاج من الحالة التعاونية أو ال Prophage إلى الحالة الخضرية أو ما تسمى ب Vegetative state ،والتى ينجم عنها تحطيم خلايا البكتريا . ووجد أنه يمكن استحداث الحالة الخضرية بالمعاملة بجرعات بسيطة من الاشعة ما فوق البنفسجية،ولكن المعاملة بجرعات كبيرة من هذه الاشعة قد يُشفِى البكتريا من البروفاج الذى تحمله و تصبح غير ليسوجينية .

ووُجد أنّ خاصية اللسجنة Lysogeny تعطى ميزة للبكتريا . إذ أنّ وجود البروفاج بداخلها يجعلها تقاوم أىّ عدوى أخرى وتمنع النمو الخضرى لجسيمات فيروسية من نفس صنف البروفاج . فمثلا بكتريا إ.كولاى E. coli والتى بداخلها بروفاج (λ لامبدا) يمكنها أن تعيش فى بيئة تحتوى جسيمات فاج لامبدا Lambda دون أن تتحطم . كما وُجدَ أيضا أنّ بعض البكتريا غير الليسوجينية قد تهرب من التحلل تحت نفس الظروف ولكن بسبب أنها قد أصبحت ليسوجينية ،أى أصبحت تحمل البروفاج λ وتنتج مستعمرات ليسوجينية منيعة لأىّ تحلّل قد يحدث مستقبلا نتيجة لعدوى جديدة بفاج λ. ويوضح الشكل (٢–١٢) دورة اللسجنة .



شكل (٢ـ١٢) : دورة اللسجنة فى البكتريـــــات٠

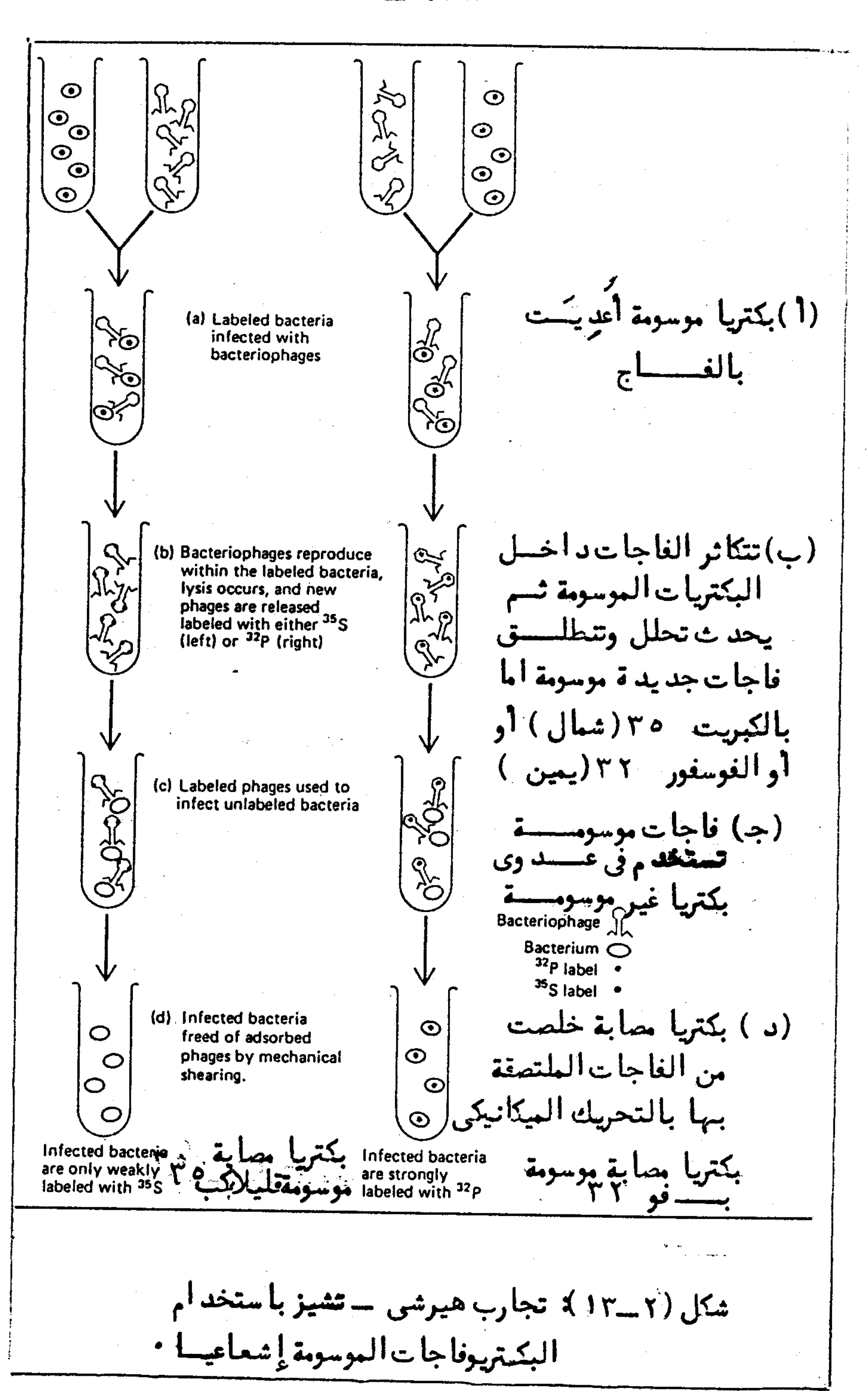
ويوجد للفاج رأس Head مغلف من الخارج بغلاف بروتينى وتحـوى بداخلها دنأ الفاج ٠ وقد وُجد أنّ معاملة البكتريوفاج بانزيـــم الدينيز DNase لايؤثر على دنأ DNA الفيروس ٠ لكن بعد تمزيـــق الغلاف البروتينى بصدمة أسموزية مثلا ثم المعاملة بالانزيم فان ذلك يـؤدى إلى الحصول على محلول يحتوى على حبيبات صغيرة من الدنأ DNA ، إضافة إلى الغلاف البروتينى الممزق ٠ ومن خلال دراسات هريوت Herrict تبيّن أنّ التصاق الغلاف البروتينى لفاجات معدية بخلايا البكتريا يحـدث

لها تحللا ولكن لا تتكون حبيبات جديدة من الفاج ، مما يشير إلى الدور الهام الذى يلعبه د ن أ DNA الفيروس فى تكوين نسل جديد منه ٠ وقد أثبت هيرشى وتشيز Hershey & Chase عام ١٩٥٢ بوضوح أنّ تكوّن جسيمات جديدة من الفيروس يظهر فقط إذا ما أعديت البكتريا بـ د ن أ الفيروس وترك الغلاف coat البروتينى خارجها ٠

تجارب هيرشى ـ تشيز لاثبات أن الـ د ن أ هو المادة الوراثية :

استخدم هذان الباحثان النظائر المشعة Isotopes لاثبات أنه عند مهاجمة الفيروس لخلية بكتيرية ، فإنّ د ن أ الفيروس هو الذى يدخل الخلية ، ويبقى الغلاف البروتينى خارج الجدار الخلوى ٠ وحيث أن الفوسفور يدخل كعنصر رئيسى فى تركيب الـ د ن أ ، بينما يحتوى البروتين على الكبريت ، فقد قام هيرشى وتشيز بوَشْم فوسفور الـ د ن أ بالنظير المشع فو ٣٢ (^{32}P) . ويمكن إجراء ذلك بتنمية البكتريا فى بيئة تحتوى إما على النظير المشع للكبريت كب ٣٥ (^{35}S) وإما على النظير المشع للفوسفور ^{32}P ، ثم يُسْمَح للبكتريوفاج بمهاجمة البكتريا المشِعّة ٠ وبعد تكاثر الفاج داخل البكتريا المشِعّة ينطلق نسلُه الذى يكون مَوْسُوما بنوع النظير المشع الذى يَسِم البكتريا المصابة (انظر الاشكال ٢-١٣ و ٢-١٤) ٠

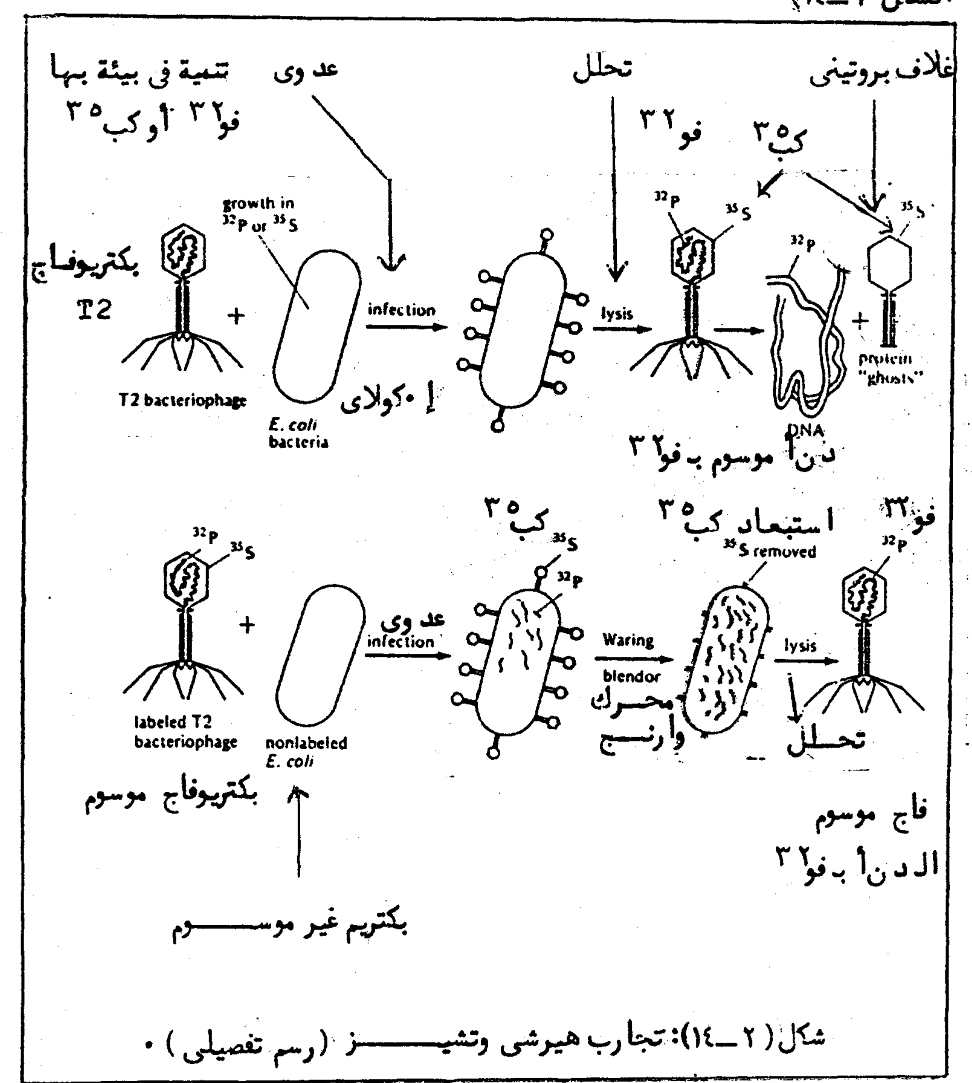
ثم قام هذان الباحثان بعكس التجربة ـ فقد قاما بإجراء عدوى لبكتريا غير موسومة بنظائر مشعة ـ بفاجات سبق وَسْمُها بالنظائر المشعة ٠ وبعد مرور فترة كافية لتكاثر الفاج داخل البكتريا ، قاما بتحديد توزيع النظائر المشعة داخل البكتريا المصابة ٠ ولقد بيّنَت نتائج هذه التجربة أنه فى حالة الفاجات المَوْسُومَة بالكبريت المشع كان النشاط الاشعاعى موجوداً على سطح البكتريا العائلة الذى يحمل الاغلفة البروتينية للفاجات



شكل (٢ــ١٣): تجارب هيرشى ــ تشيز باستخدام البكتريوفاجات الموسومة إشعاعيــا ٠

أما فى حالة الفاجات الموسومة بالفسفور المشع فقد كان النشاط الاشعاعـــى داخل الخليـــــة .

هذا يدل على أن ما ينتقل من الفاج إلى داخل البكتريا هو الدنأ وليس البروتين ،وهذا دليل مباشر على أن الدنأ هو المادة الوراثية (أنظـــر الشكل ٢ــ١٤) .



شكل (٢ــ١٤): تجارب هيرشي وتشيـــــز (رسم تفصيلى) .

وتأكدت هذه النتائج بدراسات متعددة ، منها ما أوضحه ماير Meyer وزملاؤه عام ١٩٦١ من أن الفاج λ يظل مُعْدِيا وينتج نسلا حتى بعد إزالة الغلاف البروتيني . وكذلك بين سيكيجوتشي Sekiguchi وزملاؤه عام ١٩٦٠ أن الدنا DNA النقى المستخلص من الفاج ϕX174 والذى يتكون من سلسلة فردية — يحافظ على قدرته على عدوى البكتريا وإنتاج فاجات جديدة . وفى كلتا الحالتين وجد أن الـ DNA يفقد هذه الخاصية إذا ما عومل بإنزيم الدينيز DNase.

العدوى بفيروس تبرقش الطباق : TMV-Infection

يتميز هذا الفيروس الذى يصيب نبات التبغ ويسبب له المرض المعروف بالتبرقش بأنّ الحمض النووى فيه هو الرنا RNA — وليس الدنا DNA . وهو يوجد فى سلسلة مفردة ملتفة بغلاف بروتيني يساعد الفيروس على إحداث العدوى ، كما أنه يحمى الرنا RNA من الانزيمات التى تهضمه مثل إنزيم الرينيز RNase ، إلى جانب ذلك فإنّ كل سلالة من سلالات الفيروس لها غلاف بروتيني خاص بها ولكنه يختلف من سلالة إلى أخرى ، وهذه خاصية وراثية .

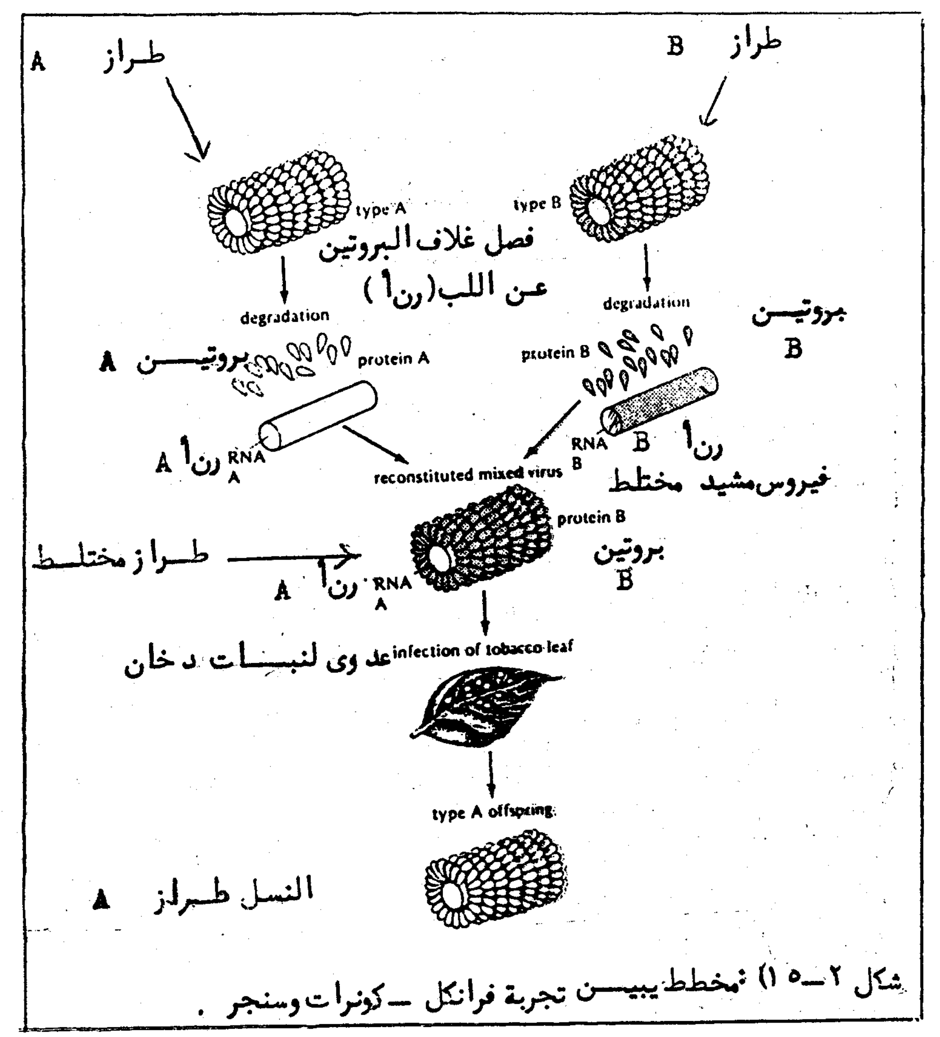
وقد تمكن فرانكل — كونرات Frankel-Conrat وآخرون بطرق بيوكيماوية من فصل البروتين عن الرنا RNA ، ووجدوا أنّ البروتين بمفرده لم يستطع إحداث العدوى المَرَضية للنبات ولكن خلطه مع رنا RNA المفصول عنه يُمكّنه من إحداث العدوى وتكوين جسيمات جديدة من الفيروس.

واستطاع جيرر وشرام Gierrer & Schramm عام ١٩٥٦ من إحداث الاصابة لنبات الدخان وتكوين نسل جديد من الفيروس بحك

مستخلص من رنأ RNA الفيروس على أوراق النبات ،كما أنّ معاملة المستخلص النقى بانزيم الرينيز RNase أفقده خاصية إحداث العدوى • وقد أوضح فرانكل ــ كونرات وسنجر Frankel, Conrat & Sanger عام ١٩٥٧ أنه بتركيب فيروس من رنأ RNA لسلالةما (A مثلا) مع بروتين من سلالة أخرى (B مثلا) وإحداث الاصابة يتكون نسل من الفيروس بروتينه من النـــوع A، أى يتحدد نوع البروتين فى النسل حسب نوع الـ رنأ RNA فى الأب وليـــس حسب بروتين الأب كما يوضح ذلك الشكل رقم (٢ ــ ١٥) •

وهذا يثبت أنّ الحمض النووى رنأ هـو أيضا المادة الوراثية فـــى الكائنات التى تحتوية بدلا من إحتوائها على الحمض النووى DNA ، مثل فيروس TMV ،وفيـــروس الانفلونزا وغيرهـــــا •

ولقد أثبتت معظم الدراسات الحديثة أنّ الغالبية العظمى مـــن الفيروسات النباتية الممرضة Pl.pathogenic تتكون مادتها الوراثية من الحمض النووى رنأ ،ومن أمثلة ذلك فيروس موزايك الخيار CMV وفيروسات موزايك القرعيات ،والقليل من الفيروسات النباتية تتكون مادته الوراثية مـــن الدنأ • ومن أمثلة ذلك فيروس القنبيط Caulimovirus والفيروســـات التوأمية Gemini group viruses • كما ثبت أنّ معظم الفيروسات التى تصيب الكائنات الحيوانية تتكون مادتها الوراثية من الدنأ ــ مثل فيـــروس جُدَرِى الارانب (RPV) rabbitpox virus وفيروس جدرى الفـــئران Orthopox virus(mice) وكثير من الفيروســـات التى تصـــيب الانسان وخاصة المسببة للأورام السرطانيـــة •



شكل ٢ ـ ٥ ـ ١) مخطط يبين تجربة فرانكل ـ كونرات وسنجر .

الاستقال (النقل الوراثى بالفاج) :

تعتبر ظاهرة الاستقال Transduction من البراهين المباشرة على أنّ الدن أ هو المادة الوراثية • وقد اكتشفها زِنْدَ رولدِ ربيرج عام ١٩٥٣ فى بكتريا تيفوئيد الفئران **Salmanella typhimurium** وظاهرة

الاستقال تحدث بين سلالتين من البكتريات عن طريق وسيط ثالث هو الفاج . وتتلخص هذه الظاهرة فى أن بعض الفاجات يمكنها أن تستقطع مقاطع من دنا خلية بكتيرية عائلة إلى خلية بكتيرية أخرى ، مما يترتب عليه أنّ الاخيرة تنتقل إليها بعض صفات الخلية الاولى . فيمكن لبعض سلالات الفاج أن تدخل إلى بكتريم وتعيش فيه دون أنْ تسبب له أى ضرر . وفى هذه الحالة يندمج دنا الفيروس فى دنا الخلية البكتيرية العائلة ويصبح جزءا منه يتكاثر معه بنفس المعدل ونفس السرعة وينتقل معه إلى نسل الخلية خلال الاجيال المتعاقبة . وتسمى الفاجات التى تكوّن مثل هذه العلاقة بالفاجات المعتدلة (Template) كما سبق الذكر ، ويعرف دنا الفيروس المستنسخ باسم سلف الفاج (أو البروفاج Prophage) .

وقد تنقلب الفيروسات المعتدلة وتصبح شرسة ، وتبدأ فى التكاثر مستقلة عن تكاثر دنا الخلية بسرعة هائلة وتكوّن عددا كبيرا من نسل الفيروس الجديد وتقتل الخلية ثم تتحلل الاخيرة وتنطلق منها الفيروسات الجديدة ، وقد تهاجم هذه الفيروسات الناتجة خلايا بكتيرية جديدة وتعيش معها مرة أخرى . وقد وُجد فى بعض الاحيان ـ عند حدوث هذا التبدّل فى سلوك الفاج المعتدل ـ أن تستقطع هذه الفاجات مقاطع قصيرة من دنا الخلية البكتيرية المصابة وتنقلها إلى الخلية الجديدة التى تهاجمها ، وتندمج هذه المقاطع فى دنا الخلايا الجديدة . وعند حدوث ذلك فإنّ هذه الخلايا البكتيرية المنقول إليها المادة الوراثية بواسطة الفاج تظهر عليها بعض الصفات الوراثية التى كانت موجودة فى الخلايا البكتيرية المصابة .

وقد تكون المادة الوراثية التى تنتقل عن طريق الفاج المعتدل المنطلق مقاطع من جينات مرتبطة ، مما يدل على أنّ الفاج يستقطع وينقل مقاطع من كروموسوم الخلية البكتيرية الواهبة لتحلّ محل جينات نظيرة فى

كروموسوم الخلية البكتيرية المستقبلـــــــة .

وفى التجارب التى أجراها زندر و ليد ربيــرج ، أستخدمت ســـلالات بكتيرية طافرة تكميلية الاغتذاء Auxotrophic (وهى طوافر لا يمكنها تخليق واحد أو أكثر من المواد الغذائية الضرورية لنموها ، بل يلزم استكمالها فى البيئة المُغَذِّية حــتى يمكنها النمو) من تيفوئيد الفئران . فكانت إحـــدى السلالتين تكميلية الاغتذاء auxotroph للحمض الأمينى "مثيونيـــــــن methionine (me^-thr^+) والاخرى تكميلية الاغتذاء للحمض الأميـــنى "ثريونيـــــــن thrionine (me^+ths^-) . وكلتا السلالتين — كلّ بمفرده — لايمكنه النمو على البيئة الدنيا minimal medium . ولكــن عند خلط السلالتين معاً وزراعتهما على بيئة ينقصها كل من الحمضين ، المثيونين والثريونين ،تظهر بعض الأفراد البرية وتتكون مستعمرات بدائيــة الاغتذاء Prototrophs.

وقد فُسِّر ظهور هذه المستعمرات بدائية الاغتذاء على أساس تكـــوّن اتحادات وراثية جديدة ، وتبادل للدنا بين السلالتين تكميليتى الاغتذاء auxotrophs ،وأنّ هذا التبادل قد تمّ عن طريق الفيـــــروس Salmonella P_{22} والذى كان يعيش داخل أحد الابوين البكتيريـــين .

وعموما يُعْتَقد أنّ الجسيمة الفيروسية تستقطع مقطعا كروموسوميا مـــن الخلية البكتيرية الواهبة والتى كانت تعيش فيها ، وتنقلها إلى الخليـــة البكتيرية المستقبلة (التى دخلتها) ، وهذا المقطع الكروموسومى المُستنقل قد يتزاوج مع الجزء المناظر له فى الكروموسوم البكتيرى للخلية المستقبلـــة ويشترك معه فى عملية التناسخ الكروموسومى ، ويحدث العبور بين المقطـــع الكروموسومى المُستَنْقل والمقطع المناظر فى الخلية المستقبلة ،مما يـــؤدى إلى حدوث اتحادات وراثية جديدة بالنسبة للجينات المتناظـــــرة .

ولقد أثبتت التحليلات الوراثية لعمليات العبور هذه ـ بطريقة مماثلة لما هو متّبع فى بعض الكائنات الراقية ، مثل الدروسوفلا والذرة وغيرهما ـ أنه يمكن رسم خرائط وراثية فى الكائنات البكتيرية باستخدام ظاهرة الاستقلال الوراثى .

تناسخ الدنأ أثناء دورة الخلية ميزة النواة :

من المعتقد أن كل كروموسوم فى الخلية ميزة النواة Eukaryotic cell يحتوى على سلسلة حلزونية من مادة دنأ ، مرتبطة مع أنواع مختلفة من البروتينات . وفى أثناء فترة التخليق S-phase لابد أن تتناسخ هذه السلسلة الحلزونية لكى تعطى سلسلتين حلزونيتين شقيقتين . ويتناسخ الدنأ نتيجة لتأثير عدد من الانزيمات . وأكثر هذه الانزيمات أهمية فى هذه العملية هو إنزيم بلمرة الدنأ polymerase وانزيم التناسخ "ريبليكيز Replicase" وهو يساعد فى تناسخ كل سلسلة من حلزون الدنأ إلى سلسلة تكاملية أخرى ، وبذلك يتخلّق حلزونان شقيقان من الحلزون الابوى الاصلى (الشكل ٢ ـ ١٦) .
ولقد بينت كثير من الدراسات فى خلايا الانسان أنّ تناسخ الدنأ يحدث بمعدل $\frac{١}{٢}$ ميكرون فى الدقيقة . ولما كان الدنأ فى كروموسوم متوسط للانسان يُقدّر طوله بحوالى ٣٠٠٠٠ ميكرون ، فيعنى هذا أنه إذا بدأ التناسخ عند أحد طرفى الكروموسوم ثم امتد تدريجيا إلى الطرف الآخر ، فإنّ إتمام هذا التناسخ قد يستغرق حوالى ١٠٠٠ ساعة ، وهذا يتناقض تماما مع طول فترة التخليق النموذجية والتى تُقدّر بحوالى ٦ ـ ٨ ساعات .
ولقد اكتشف كل من هوبرمان Huberman و ريجز Rigs حلاّ لهذا التناقض عندما عرّضا خلايا إنسان ـ زُرعت فى طور التخليق ـ لمادة الثيميدين الموسومة بالتريتيوم المشع (يد ٣) (لاحظ ـ أن الثيمين هو أحد القواعد

الاساسية في الدنا) ،لفترات قصيرة ،ثم عزلا شظايا fragments كبيرة من الدنا من هذه الخلايا ، وفرّداها على سطح مستوى ، وعرضا تحضيرات منها للتصوير الاشعاعي الذاتي (أوتوراد يوجرافي Autoradio-graphy) ،فوجدا أجزاء عديدة في خيط الدنا قد وُسِمَت بشدة بالتريتيوم (أنظر الشكل ٢-١٩) ،مما يدل على أن كل كروموسوم يتناسخ بواسطة إنزيمات التناسخ في مناطق عديدة في وقت واحد . من ذلك يمكن القول أنّ كل كروموسوم يحتوى على عدد من وحدات التناسخ (ريبليكونات Replicons) ، كل وحدة منها بطول حوالي ٣٠ ميكرون ،وتأخذ الخيوط الصغيرة الجديدة المُخَلّقة ، والتي تكونت منفصلة عن بعضها ، كل وحدة بطول حوالي ٣٠ ميكرون — في الترابط مع بعضها لتكوّن خيطا جديدا طويلا ومستمرا .

وفي كثير من الحالات تسلك وحدات التناسخ كما لو كانت مستقلة عن بعضها البعض ، ولما كان من المحتم تناسخ جميع الدنا الموجود في النواة قبل الدخول في عملية الانقسام الميتوزي — حتى يمكن للنوى الشقيق أنْ يتلقّى مجموعات كاملة من المعلومات الوراثية — فبلابد إذن من وجود ميكانيكية معينة يمكنها التعرّف على الوقت المناسب الذى تتم فيه جميع وحدات التناسخ أنشطتها التخليقية لتعطى إشارة بدء مرحلتي ما بعد التخليق (G_2) والانقسام الميتوزي (M) من دورة الخلية . وطبيعة هذه الميكانيكية غير معروفة تماما حتى الآن .

الاساس الجزيئي لتناسخ الدنا : The molecular basis of DNA replication

يعتبر كل من واطسون وكريك أول من وضع النظرية التي مازالت سائدة حتى الآن — عن طريقة تناسخ الدنا . فقد افترضا أنه قبل استهلال التناسخ أو أثناءه ، تتفكك الروابط الهيدروجينية الموجودة بين

سلسلتى الحلزون الواحد وتنفك الحلزنة ، ثم تبدأ السلسلتان المتكاملتان للجزئ فى الانفصال عن بعضها عند نقطة أو أكثر ، حيث تعمل كل سلسلة كقالب Template يتخلق عليه سلسلة جديدة مكملة . وتتوازى عملية تجميع السلاسل الجديدة مع تدرج انفصال السلاسل القديمة . وتنتهى العملية بتخليق جزيئين متطابقين تماما بدلا من الجزئ القديم الواحد .

وتعرف طريقة التناسخ هذه بالطريقة شبه المحافظة Semi-conser-vative ، وفيها يكون كل جزئ من جزيئات الدن أنصفه أبوى ونصفه جديد . أى أن إحدى السلسلتين تكون بنفس البناء الاصلى والأخرى يتم تخليقها أثناء تناسخ الجزئ . ولقد أجريت عدة تجارب لتدعيم صحة طريقة التناسخ هذه فى البكتريات ، وقبل أن تناقش نتائج هذه التجارب يجدر بنا أن نعرف شيئا عن التنظيم الوراثى للهيئة الجينية لبعض البكتريات .

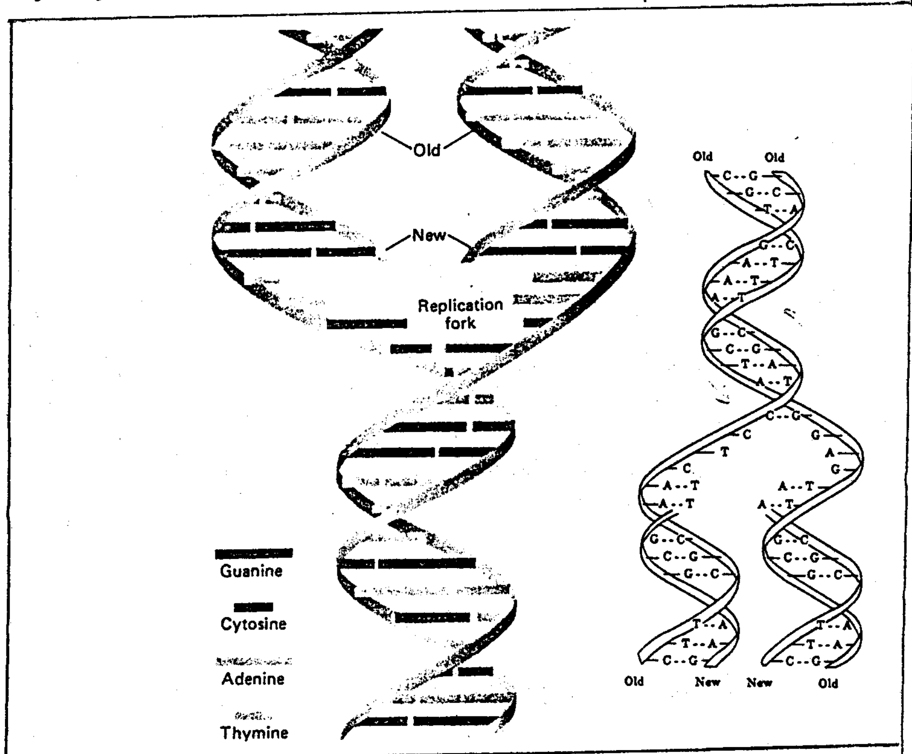
الخلية البكتيرية وبناء الكروموسوم :

تعتبر البكتريات إ . كولاى E. coli وباسيليوس ستلس Bacillus subtilis ، سالمونلا تيفيموريم S. typhimurium وديبلوكوكس- نيمونيا D. pneumonia (بكتريا الالتهاب الرئوى) أكثر الكائنات بدائية النوى المستعملة فى الابحاث الوراثية . وبالرغم من أن لكل من هذه الانواع البكتيرية خواصها المميزة ، إلا أن جميعها تشترك فى الخصائص التالية :

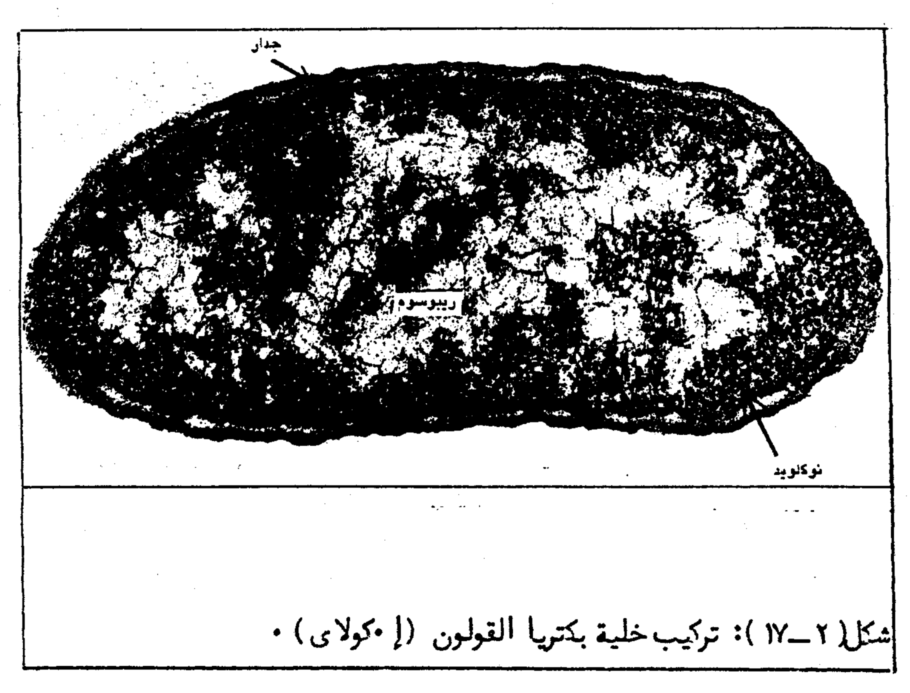
(١) جميعها يشترك فى كونه صغير الخلية (١-٢ ميكرون طولا و $\frac{١}{٢}$ ميكرون عرضا) ومحاطة بواحد أو أكثر من الاغشية والجدران .

(٢) تحتوى البكتريات على سيتوبلازم ملئ بالريبوسومات ومناطق تشمل دن أ تسمى نوكلويدات Nucleoides (الشكل ٢-١٧) ، وحجمها الظاهرى

او ٠ . ميكرون مكعب ٠ ويكتظ الـ د ن أ بكثافة عالية داخل نوكلويد ما ليجعل أغلب الجسيمات السيتوبلازمية مستبعداً ، كما أن النوكلويد غير محاط بغشاء ، كما أن هذا السيتوبلازم لايحتوى العضيات الاخر التى تميز الخلايا ميزة النوى ٠



شكل(٢ ـ ١٦) : تناسخ الجزىء المزدوج من الـ د ن أ طبقا لنموذج واطسون وكريك ٠ البيورينات كمستطيلات طويلة ، والبيريميدينات كمستطيلات صغيرة ، الخيوط الجديدة مرسومة باللون الباهت ٠ (عن واطسون وكريك ـ مجلة Nature ١٩٥٣) ٠



شكل (٢ ــ ١٧): تركيب خلية بكتريا القولون (إ ٠كولاى) ٠

(٣) غالبا ما يوجد الـ د ن أ فى كل من إ ٠كولاى ،وب٠ ستلس فى صـــورة كروموسوم رئيسى مفرد يحتوى على حوالى ١١٠٠ ملليميكرون من الد ن أ ، ووزنه الجزيئى حوالى ٢,٦ × ١٠ ^٩ د التون ٠ ويختلف الـ د ن أ هذا عـن الـ د ن أ الموجود فى كروموسوم الخلية ميزة النواة فى كونه غير مرتبـــط بالهستونات ،كما أنه لايكوّن تراكيب منتظمة من الأجسام النوويـــة (نوكليوسومات nu-bodies or nucleosemes) وهو يتشكّل كذلك بشكل حلقة عملاقة ،بمعنى أنّ الكروموسوم المزدوج يلتف حول نفســه وتلتصق أطرافه مع بعضها حتى أنه عند ما نمعن النظر على طول جزىء

الـ د ن أ يصبح من المستحيل تحديد بدايته من نهايتـــــه .

(٤) علاوة على الكروسوم الاساسى هذا ، فإنّ الخلايا البكتيرية طالما تحتوى على واحد أو أكثر من الكروموسومات الثانوية ، لكلٍ منها يسمى البلازميد Plasmid ، وهو قد يحتوى ٥ر٠ـ٢٪ من د ن أ الخليـــــة . والبلازميد قد يتضمن من ٤ـ٣٥ ملليميكرون من الـ د ن أ المـــزدوج ، وهذا بدوره خالٍ من الهستون ويدور حول نفسه ليكوّن حلقة صغيرة .

دورة خلية البكتريا :

تتكون دورة خلية إ . كولاى عند معدلات النمو البطيئة (أكثر مـن ٦٠ دقيقة للجيل الواحد) من ثلاث مراحل : (١) التحضير لبدء تناسخ الـ د ن أ (٢) تناسخ الـ د ن أ ، و(٣) مرحلة تقع بين نهاية تناسخ الـ د ن أ وانقسام الخلية . أما عند معدلات النمو السريعة ، فقد تبدأ جولة ثانية من تناسـخ الـ د ن أ وقبل الانتهاء من الجولة الأولى ، لذا فإن المراحل الثلاث تصبح غير واضحة المعالم ، ويمكن أن يقال أن تخليق الـ د ن أ مستمر . وليس ثمـة ما يشبه الميتوزى فى دورة الخلية البكتيرية ، كما أنّ الكيفية التى ينعزل بها الكروموسوم أثناء انقسام البكتريا غير معروفة . ولما كان انقسام الخليـــة يصحبه نمواً داخليا من جدار البكتريا يسمى الميزوسوم Mesosome ، فإنّ أبسط نموذج لانعزال كروموسوم البكتريا يشير إلى أنّ الاخير يتصــل بالجدار فى بداية التناسخ عن طريــق نقطة الاتصال ، ثم يتم تخليق نقطـة اتصال شقيقة أخرى أثناء عملية التناسخ ، وتكون المحصلة أنّ الميزوســوم والذى يستمر نموه تجاه الداخل يفصل بين نقطتى الاتصال هذه لتنعـزل الكروموسومات الشقيقة إلى خلايا شقيقة . ويُعَزّز هذا النموذج تقارير تبيـن أنّ د ن أ البكتريا إ . كولاى يرتبط بالفعل بنوعية خاصة من بروتينات الجدار

عند تناسخـــــــه ·

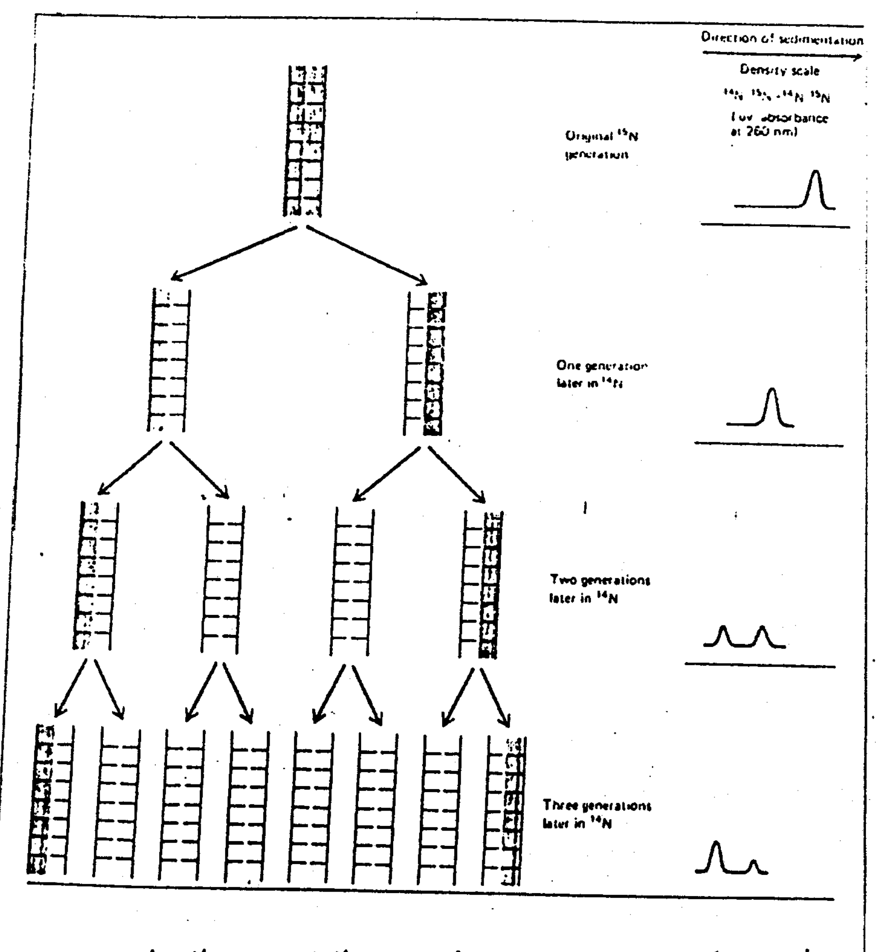
وخلية البكتريا إ ·كولاى تنقسم بسرعة : مرة كل ٢٠ دقيقة (الخميـــرة والتى تُعْتَبر من أسرع الكائنات ميزة النوى إنقساما ،تتقسم مرة كل $\frac{١}{٤}$ ١ ساعة تحت ظروف نمو متشابهة) · وبالطبع تعتبر فترة الجيل القصيرة هذه ميـــزة جذابة للدراسات الوراثية فى إ ·كولاى لانها تعنى الحصول على أعداد كبيرة من الكائنات المتماثلة وراثيا من خلية واحدة فى زمن غاية فى القصـــر ·

الطريقة شبه المحافظة لتناسخ الـ د ن أ :

The semi-consevative mode of DNA replication

كما سبق الذكر ، يقترح نموذج واطسون وكريك لبناء الـ د ن أ ، أنه بمجـرد بدء تناسخ الكروموسوم تنفك حلزنة الخيطين الاصليين متعددى النوتيـدات المكونين للحلزون المزدوج —على الاقل موضعيا— حتى أن كلا من الخيطين يعمل كقالب لخيط جديد · ويمكن من هذا الاقتراح التنبوء بأن كلا مـــن الجزيئين المزدوجين الناتجين من التناسخ يَكُونَانِ بالطبع هجينين ، كُلٌ يحتوى على خيط أبوى قديم مأخوذ من الجزىء الاصلى وخيط جديد تكـوّن خلال عملية التناسخ ، ويوضح الشكل (٢—٨) رسما تخطيطيا لهذا التنبوء · ويتنبأ هذا الشكل بما يمكن الحصول عليه لو أن هذين الجزيئين المزدوجين الهجينين استمرا فى التناسخ · ففى هذه الحالة سوف تنتج أربعة جزيئـات مزدوجة ،اثنان منها سيحتويان على خيط مفرد من الكروموسوم الاصلـــى ، والاثنان الآخران سيحتويان على خيط مفرد من د ن أ جديد برمته · وبالمثل فسينتج بعد جولة ثالثة من التناسخ ثمانية كروموسومات مزدوجة اثنان منها مازالا يحتويان خيطـا أصليـــا ·

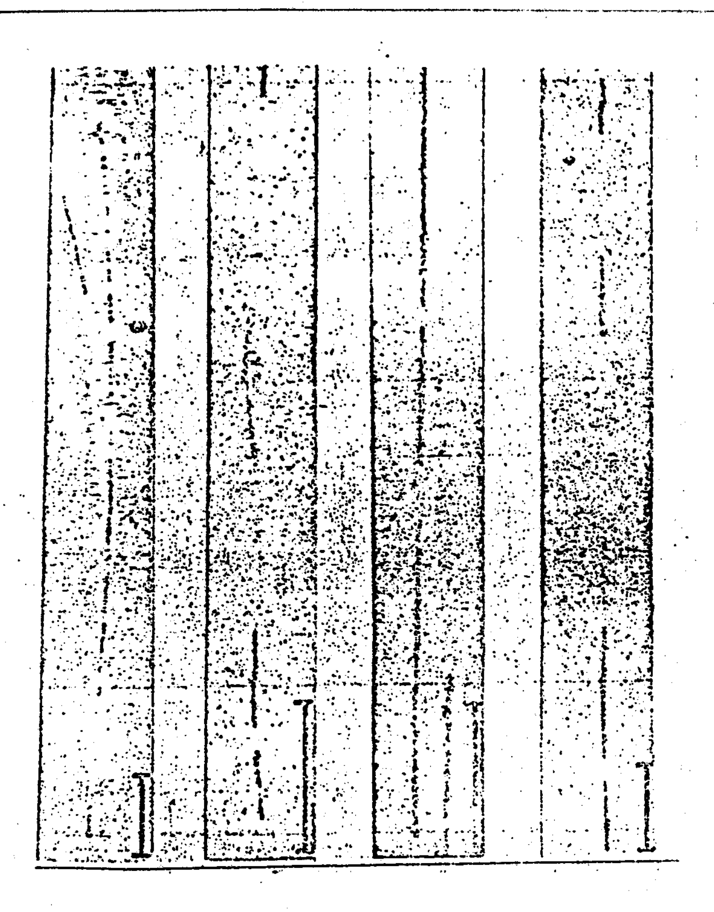
وفى عام ١٩٥٨ عزز ميسلسون وشتال بالتجربة هذا النموذج لتناسـخ الـ د ن أ · وقد استغلا الحقيقة التى هى أنه إذا نميت خلايا فى بيئـــة



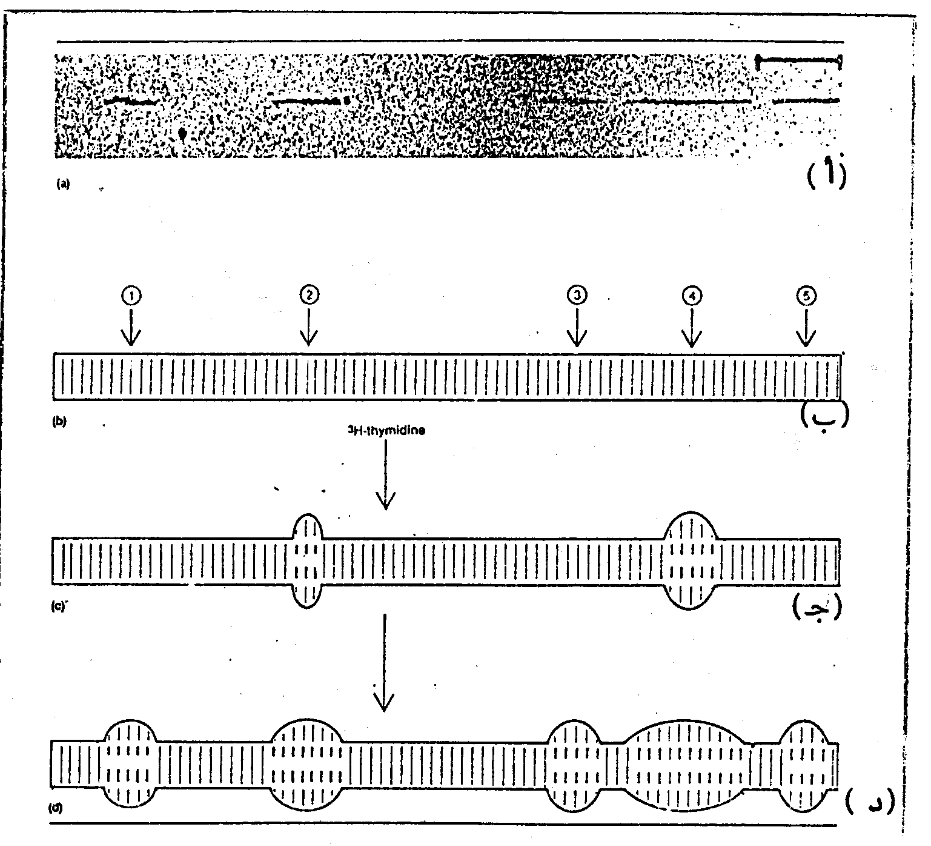
شكل(٢ـ١٨): تجربة ميسلسون وشتال توضح الطريقة شبة المحافظة Semi-conservative لتناسخ الـ د ن أ . اللون المظلل للـ د ن أ "القديم" الموسوم بـ ن ١٥ ، واللون غير المظلل للـ د ن أ "الجديد" الموسوم بـ ن ١٤ . (عن كتاب "الوراثة" تأليف أورسولا جودينف ١٩٧٨ — النسخة العربية) .

تحتوى ن ١٥ — وهو النظير الثقيل للنيتروجين — فإنّ الـ د ن أ للخلايا سيصبح أثقل من الـ د ن أ الطبيعى وأنّ هذا الاختلاف فى الكثافة يمكن تمييزه بالطرد المركزى فى محلول كلوريد السيزيوم . وعندما ترك ميسلسون وشتال بكتريا إ . كولاى لتنمو لعدة أجيال فى النظير ن ١٥ ، تحصلا على عشيرة من الخلايا مَوْسُوم جزيئاتها جميعا بالـ ن ١٥ . وقد اتضح أن الـ د ن أ من هذه الخلايا يظهر كثافة الترسيب(Buoyant Density) المتوقعة من د ن أ موسوم بـ ن ١٥ . وبعدئذ تنتقل الخلايا لبيئة تحتوى على ن ١٤ فقط كمصدر للنيتروجين . وقد وُجد عقب دورة واحدة من التناسخ أنّ الـ د ن أ فى الخلايا الشقيقة لا يُظهر الكثافة الخاصة بالـ ن ١٥ الاصلى ولا بالـ ن ١٤ النقى ، ولكنه يُظهر الكثافة الوسطية للهجين ن ١٥ — ن ١٤ ، وهذا بالضبط ما كنّا نتوقعه من نموذج التناسخ المقترح من قِبَل واطسون وكريك . ولو تركت الخلايا الشقيقة لتنقسم مرة أخرى فسيظهر فى محلول التفريد نوعيتين من الـ د ن أ نصف الـ د ن أ بالتقريب يُظهر كثافة هجينة لـ ن ١٥ — ن ١٤ ، بينما تظهر البقية الباقية كثافة الـ ن ١٤ النقى . وباستمرار إنقسام الخلايا فى بيئة الـ ن ١٤ تزداد باضطراد فى العشيرة نسبة الـ د ن أ الذى يُظهر كثافة ن ١٤ ، ولو أنه يمكن ولعديد من الاجيال روئية شريط باهت فى موقع د ن أ ن ١٥ — ن ١٤ فى محلول التفريد . ومرة أخرى تتفق هذه النتائج مع أسلوب التضاعف المقترح بواسطة واطسون وكريك .

وتُعتبر تجربة "ميسلسون — شتال" ذات أهمية خاصة كبرى ، ليس فقط لانها أكدت الطريقة التى يتناسخ بها الـ د ن أ ، ولكن لانها كذلك استبعدت احتمالات حدوث طرق أخرى . وعلى سبيل المثال ، فقد يُظنّ أنّ التناسخ يتم بالطريقة المحافظة Conservative : بمعنى أن الجزئ المزدوج الاصلى يعمل كقالب لجزئ مزدوج جديد على أن يبقى كاملا ، أىّ أنه



شكل(٢ــ١٩): صور الاشعاع الذاتى Autoradiograms لـد ن أ خلايا الانسان (خلايا الـHeLa) ، و د ن أ خلايا الفأر الصيفـــى الموسوم بالثيميدين ــيد³ أثناء تناسخه (عن هوبرمــــــان وتساى ١٩٧٣) • لاحظ وحدات التناسخ (الريبليكونـــات) تظهر كخطوط د اكنة متقطعــــة على طول الجـــزىء •



شكل (٢–٢٠): الريبليكونات Replicons : (أ) صورة إشعاعية ذاتية لـ د ن أ من كائن مميّز النوى موسوم بنبضات إشعاعية للثيميدين أثناء التناسخ ، من (ب إلى د) مُخَطّط لتجربة الوسم . (ب) د ن أ غير متناسخ وغير موسوم يبين خمسة مناشئ للتناسخ . (جـ) نتيجة للتعرض الثيميدين المشع لفترة ضئيلة للغاية ، يلاحظ فقط أن الريبليكونات ٢ و ٤ هى التى استهلّت التناسخ . وفى استمرار وجود الثيميدين تبتدئ الريبليكونات الثلاثة الباقية فى التناسخ ، بينما تستمر الريبليكونات "مبكرة التناسخ" فى تطويل الـ د ن أ المُسْتَنسَخ مُعْطِية النموذج المبين فى (أ) (عن كتاب الوراثة – جودينف ١٩٨٤) .

سوف نحصل فى نهاية الدورة الأولى من التناسخ على جزيئين مزدوجين ، أحدهما قديم والآخر جديد . ولايمكن فى هذه الطريقة أن يتكوّن جزئ الدنأ الهجين ن^{15} — ن^{14} . ونتائج التجربة تعارض ذلـــك .

وبالطبع يتم تناسخ الدنأ فى كل الكائنات فى وجود إنزيمات محددة بجينات تُعْرَف باسم إنزيمات بلمرة الدنأ ، ويعرف منها العديد فى بكتريـا الإ . كولاى .

إثبات أن دنأ كروموسومات الكائنات الراقية يتناسخ بالطريقة شبه المحافظة :

فى عام ١٩٥٧ قدم تيلور Taylor برهانا على أن كروموسومات نبات الفول تتناسخ بالطريقة شبه المحافظة . واستخدم فى ذلك الثيميدين thymidine المشع ، وهو يحتوى على نظير الهيدروجين يد^{3} (^{3}H) مكان بعض ذرات الهيدروجين العادية . فقد قام بتنمية بادرات من الفـول فى بيئة تحتوى الثيميدين المشع وذلك لوَسْم كروموسومات القمم الناميـــة بالعنصر المشع . ثم قام بتتبع توزيع الدنأ الخاص بهذه الخلايـــا باستخدام طريقة التصوير الاشعاعى الذاتـــى .

تركت البادرات لفترة تسمح بتكاثر الخلايا لدورة واحدة ، ثـــم نُقِلت البادرات إلى بيئة لا تحتوى العنصر المشع لكنها تحتوى علـــى الكولشسين وهو مادة تمنع انقسام النواة والخلية ولكنها لاتمنع تناســـخ الكروموسومات . ثم درس تيلور وجود وتوزيع الاشعاع فى الكروموسومات علـى فترات مختلفة باستخدام طريقة التصوير الاشعاعى الذاتى . فوجد أنه بعد نقل البادرات من البيئة المحتوية على النظير المشع لكن قبل أن تنقسم خلايا القمم النامية للجذور إلى البيئة الخالية من الاشعاع ، تكـــون جميع الكروموسومات فى هذه الخلايا ذات نشاط إشعاعى بدرجة واحـــدة . أما إذا تركت هذه الخلايا لتنقسم الكروموسومات ميتوزيا لدورة واحدة فـــى

غياب الثيميدين المشع ،فقد وجد أنّ نصف الكروموسومات تكون ذات نشاط إشعاعى والنصف الآخر عديم النشاط الاشعاعى ،وبعد دورتين من الانقسام يكون ربع الكروموسومات مشعا والباقى غير مشع .

مما سبق يتضح أنّ الازدواج هو أساس أى بناء وراثى والذى له قدرة كامنة على التناسخ ذاتيا .

التخليق الحيوى للد ن أ فى المعمل :

تمكن العالم كورنبرج Kornberg ـ الذى فاز بجائزة نوبل عام ١٩٥٩ ـ من تصنيع د ن أ فى المعمل من مكوناته الاساسية . فقد قام بفصل إنزيم بلمرة د ن أ DNA polymerase I من خلايا بكتريا القولون . وهذا الانزيم له القدرة على بلمرة نوسيدات ثلاثية الفوسفات لتكوين خيوط عديدة النوتيدات، ثم قام بتوفير المكونات الاساسية من د ن أ ،والظروف المناسبة لتنشيط التفاعل الحيوى وهى :

(١) نوتيدات الدأوكسى ريبوز الاربعة (أ ،ث ،ج ،س) .
(٢) انزيم بلمرة الـ د ن أ (إنزيم كورنبرج)DNA polymerase I DNA.
(٣) بعض جزيئات من د ن أ طبيعى ليعمل كقالب أو كبادئة .
(٤) مصدر للطاقة ،وهو الـ ATP (أدنين ثلاثى الفوسفات) .
(٥) بعض أيونات المغنسيوم وتعمل كمنشط للانزيمات.

وتحت هذه الظروف أمكن لكورنبرج الحصول على جزيئات من الـ د ن أ لها نفس الخواص الكيميائية والفيزيقية التى للد ن أ الطبيعى .

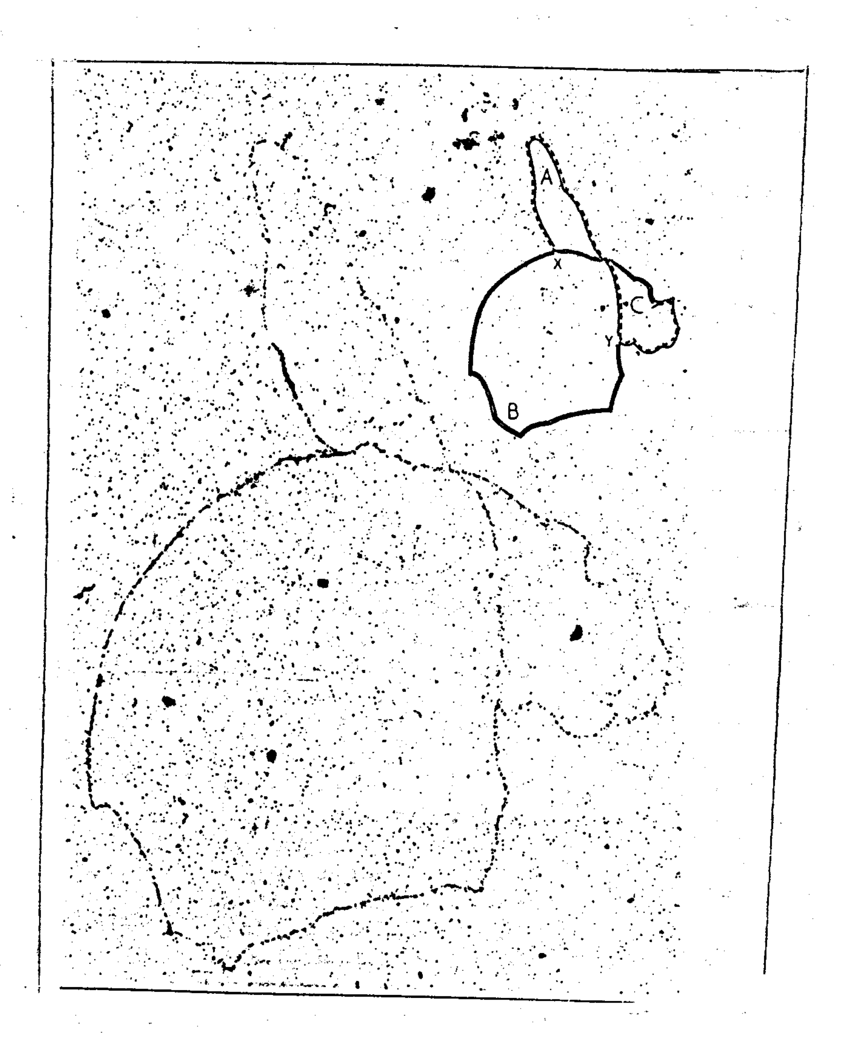
طريقة تناسخ الكروموسوم البكتيرى فى إ .كولاى :

فى عام ١٩٦٣ قام العالم كيرنز Cairns بتنمية خلايا إ .كولاى فى بيئة تحتوى على الثيميدين المشع لمدة جيلين متتالين ، وذلك لفترات

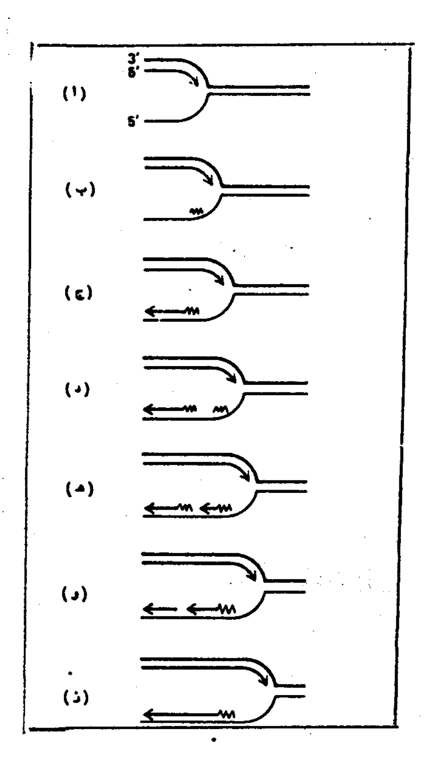
زمنية مختلفة . ثم جمع كروموسومات هذه الخلايا بدقة شديدة حتى لاتتكسّر وتام بتصويرها مستخدما طريقة التصوير الاشعاعى الذاتى (أوتوراديوجرافى) Autoradiography . ويبين تحليل الصور الاشعاعية الذاتية الطريقة شبة المحافظة التى يتم بها تناسخ كروموسوم إ.كولاى ، ويمكن تلخيص ذلك فى النقاط التاليـة : (أنظر الشـكل ٢ ـ ٢١) .

١ ـ يتناسخ الكروموسوم البكتيرى كدائرة متكاملة ، كما أنّ الدنا به يتناسخ بالطريقة شبه المحافظـة .

٢ ـ تشير توزيعات النشاط الاشعاعى فى الصور الاشعاعية الذاتية إلـى أنّ الكروموسوم المتناسخ يحتوى على نقطة لبداية النمو واحـدة growing point ، بمعنى أنّ تناسخ الدنا يبدو وكأنه يبدأ عند موقع محدد ، ثم يتقدم بعدئذ فى اتجاه واحد متحركا ضمن ملتقـى التناسخ (شوكة التناسخ) replication fork ، وعند هـذا المُلْتَقَـى يزداد تباعد الخيوط الاصلية وتتخلّق الخيوط الجديـدة حيثما يتم هذا التباعد . إلا أنّ أبحاث (ماسـترز Masters) وبرودا (Broda) عام ١٩٧١ قد بينت أنّ تناسخ كروموسوم إ . كـولاى يكون ثنائى الاتجاه Bidirectional : بمعنى أنه عند نقطـة بداية التناسخ تتحرك نقطتا بداية فى اتجاهين عكسيين حول الكروموسـوم الدائرى ، وكل بداية تنسخ حوالى ٥٠٪ من جينوم (الهيئة الجينيـة) البكتريم ، ويلتقى كلاهما عند جانب عكسى من الكروموسوم الابْوى (الشكل ٢-٢٢) ولما كان طول كروموسوم إ.كولاى يبلغ حوالى ١١٠٠ ميكرون ، وأن فـترة تناسخه تستغرق حوالى ٤٠ دقيقة ، فانه يلزم أن يُسْتَنْسَخ حوالى ١٥ ميكرونا من الكروموسوم كل دقيقة على طول كلٍّ من مُلْتَقِيَىّ التناسخ ، وهذا يعادل حوالى ٤٥ كيلو / زوج قواعد (Kbp) تضاف إلى كل نقطة بداية نمو فى



شكل (٢ــ٢١) : صورة اشعاعية ذاتية لكروموسوم إ٠كولاى E. coli
يوضح الرسم العلوى ناحية اليمين تخطيطيا نفس البنـــاء
مقسما الى ثلاثة مقاطع(A, B, C)نشأت عند ملتقيـــى
التناسخ (X, Y) (عن كيرنــــز ١٩٦٣) ٠



شكل (٢ـ٢٢) : رسم تخطيطى لشوكة التناسخ يوضح نقطة بداية النمو فى كروموسوم إ ٠ كولاى .

كل دقيقة ،ويتعدى هذا بكثير معدل النصف ميكرون فى الدقيقة والمقـــدر لتناسخ الدنأ فى الحيوانات الثديية ٠

ويبدأ التناسخ ثنائى الاتجاه فى كروموسوم إ٠كولاى من نفس الموقـــع الفريد والمسمى "منشأ التناسخ Replication origin". ويقع هـــذا الموقع على بعد حوالى ٨٦ دقيقة فى الخريطة الوراثية لهذا الكائن ٠ وعند بداية التناسخ يحدث اتصال لمنشأ التناسخ بغشاء خلية إ٠كولاى ، ثم يلى ذلك انفراج الحلزون المزدوج الأبوى ووضع النوتيدات الشقيقة الأولى فـــى وضع عكسى للخيوط الأبوية ٠ وأثبت التحليل الوراثى أن تتابع خطوات بداية التناسخ تقع تحت السيطرة الوراثية "لجينين هما dna A، dna C-D.

السيطرة الانزيمية على عملية التناسخ فى إ٠كولاى :

توجد فى خلية إ٠كولاى مجموعة من الانزيمات اللازمة لاستطالة خيـــوط الدنأ الابنية خلال فترة استهلال التناسخ ٠ وفيما يلى ملخص لهـــذه الانزيمات ووظيفة كل منها :

(١) انزيم بلمرة الدنأ —٣: DNA polymerase III

وهو إنزيم التناسخ فى بكتريا إ٠كولاى ،ويقع تحت السيطرة الوراثيـــة للجين dna E من الخريطة الوراثية لهذا الكائن ٠ وهو إنزيم يُبلمِر الدنأ داخل ملتقى التناسخ لينسخ الدنأ الأبوى إلى خيـــوط إبنية ،حيث يتعرّف هذا الانزيم على قاعدة ضمن الخيط القالب للدنآ ،ثم يختار من السيتوبلازم نوسيدة —َ٥ ثلاثية الفوسفات أحاديـــة البلمرة ومكملة للقاعدة فى الخيط الأبوى (طبقا لنموذج واطســـون —كريك لاتحاد القواعد)،ثم يصل بين النوسيدة أحادية البلمرة والخيط الابنى الجديد النامى بواسطة رابطة فوسفات َ٣ ←—— َ٥

ثنائية الاستر ،تاركا فى نهاية التفاعل اثنتين من ذرات الفوسفات الثلاث. وهذا الانزيم ليس له القدرة على بدء تخليق الد ن أ — شأنه شأن بقية إنزيمات تناسخ الد ن أ المُعَرَّفة — ويمكنه فقط إضافة نوتيدات إلى الطرف ٣َ — أيد من خيط الد ن أ وليس الطرف ٥َ — فو. ويؤدى هذا الانزيم عمله فى وجود إنزيم أساسى للتناسخ والذى اكتشفه كورنبرج Kornberg (أنظر فيما بعد) ،كما أنه يقوم بالتخليق فى إتجاه واحد فقط هو ٥َ ← ٣َ وليس العكس.

(٢) إنزيم التناسخ الأساسى (إنزيم كورنبرج Kornberg Enzyme) :

بيّنت الدراسات التى أجراها كل من كورنبرج ومساعدوه وكذلك ويكنر Wickner على تناسخ الد ن أ فى الانبوب in vitro وجود إنزيم أساسى ضرورى لتناسخ الد ن أ يقع تحت سيطرة الجين dna G من الخريطة الوراثية لـ إ.كولاى . وهذا الانزيم يقوم بتخليق خيط قصير من بادىء Primer من الد ن أ — أو الر ن أ ،ثم يستطيل البادىء بعد ذلك بواسطة إنزيم بلمرة د ن أ III ،وحينما تتم عملية بداية التناسخ ،فان تتابعات البادئ تتحلل من منطقة منشأ التناسخ بواسطة إنزيمات أُخَر.

(٣) إنزيم بلمرة الد ن أ I : DNA polymerase I

يتخلق هذا الانزيم تحت السيطرة الشفرية للجين pol A من جنيوم إ.كولاى . وهو يتكوّن من سلسلة مفردة متعددة البتيدات (polypeptide chain) ،ويتميّز هذا الانزيم بقدرته على القيام بثلاثة أنشطة :

(أ) يعمل على بلمرة سلاسل الد ن أ من بوادىء ٣َ — أيد ،وهو أبطأ فى نشاطه من إنزيم بلمرة د ن أ III،وتشير كل الدلائل أنّ إنزيم بلمرة الد ن أ I

هـو نفسه إنزيم البلمرة الأساسى ،أو إنزيم كورنبرج السابق ذكره .

(ب) له اثنتين من أنشطة الاكسونيوكلييز (exenuclease activity) إحداهما تهضم خيوط الد ن أ فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ ،والثانية تحللها فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ .

(جـ) يعمل هذا الانزيم كمُصَحّح عند ملتقى التناسخ ،حيث أنه يراجع أزواج القواعد المتكونة بواسطة إنزيم البلمرة III ،ويَستبْعد منها أية نوتيدات خاطئة قد تكون موجودة ،وذلك باستعمال نشاطه الاكسونيوكلييزى فى الاتجاه ٣َ ← ٥َ ،مستعيضا النوتيدات المُستَبْعَدة بأخرى صحيحة .

ومن الطبيعى أنْ تكون أخطاء التناسخ نادرة ،حيث أنّ جميع انزيمات البلمرة المعروفة تتميّز بدرجة عالية جدا من الاتقان . وإذا عرفنا أنّ أكثر من ٣ مليون نوتيدة تتبلمر فى كل دورة يتناسخ فيها كروموسوم إ . كولاى، فإنّه يمكن أنْ يحدث خطأ واحد — حتى لو كان نادرا — قد يؤدى الى حدوث طفرة .

(٤) إنزيم ليجيز الد ن أ : DNA Ligase

بين أوكازاكى — عن طريق تجارب تتبع النّبْض الاشعاعى للثيميدين الموسوم بـ يد٣ — أن كروموسوم إ .كولاى يتناسخ عن طريق تكوين شَظَايا من الد ن أ المُخَلّق ،ويتم لحام هذه الشظايا مع بعضها عن طريق إنزيم اللحام (ليجيز الد ن أ) لتكوين الخيوط الابنية من الد ن أ . وقد أمكن تحديد الجين lig المسيطر شفريا على هذا الانزيم فى جينوم إ .كولاى والذى يقع على بعد ٥١ دقيقة فى خريطته الوراثية .

(٥) إنزيم فك الد ن أ وفك البروتيـــن : DNA-unwinding enzyme

تتطلب عملية تناسخ الد ن أ أنْ ينفك جزئ الد ن أ الابوى المـــزدوج حتى تكون القواعد الداخلية مُعرّضة لانزيمـــــات التناسخ • ويقـــــوم بعملية الفك هذه فى إ •كولاى "بروتين التناسخ" الذى يُميّئ الرابطـــــة الفوسفاتية ATP مما يُحفِّز حلزون الد ن أ على الانشطار ، ثم يقوم بعـــــد ذلك بروتين فك الد ن أ بنشاطـــــــه •

(٦) إنزيمات أُخَر لها دور فى عملية التناسخ : ومنهـــــا

أ – إنزيم الاسترخاء relaxation (البروتين ω) وهذا يُخلِّص الكروموسوم من اللفائف فوق الحلزونية والعُقَد المتولّدة فى الكروموســـوم الدائرى أثـناء عملية الفك إستعداداً للتناســـــخ •

ب – إنزيمات (عوامل الاستطالة – يوجد على الاقل عامـــــلان) •

إنزيمات بلمرة الد ن أ فى الكائنات مميزات النـــوى :

توجد مجموعة من إنزيمات بلمرة الد ن أ فى الكائنات مميزات النـــــوى أهمهـــــا ما يلـــــى :

(١) إنزيم د ن أ – بوليميريز ألفا وبيتا : DNA-polmerase α & β

وهذا الانزيم هو المسئول عن تناسخ الد ن أ الموجود فى الكروموسومات ، كما أنّ الانزيم بيتا β موجود أيضا فى نوى الخلايـــــــا •

(٢) إنزيم د ن أ – بوليميريز "جاما" DNA-polymerase γ

يوجد هذا الانزيم فـــى العُضَيّات السيتوبلازمية فى خلايــــا الكائنات الحيوانية والنباتية ، مثل الميتوكوندريات الحيوانيـــــــة والبلاستيدات الخُضْر فى النبات • ويعتقد أنه المسئول عن تناسخ الد ن أ العضيـــــــى •

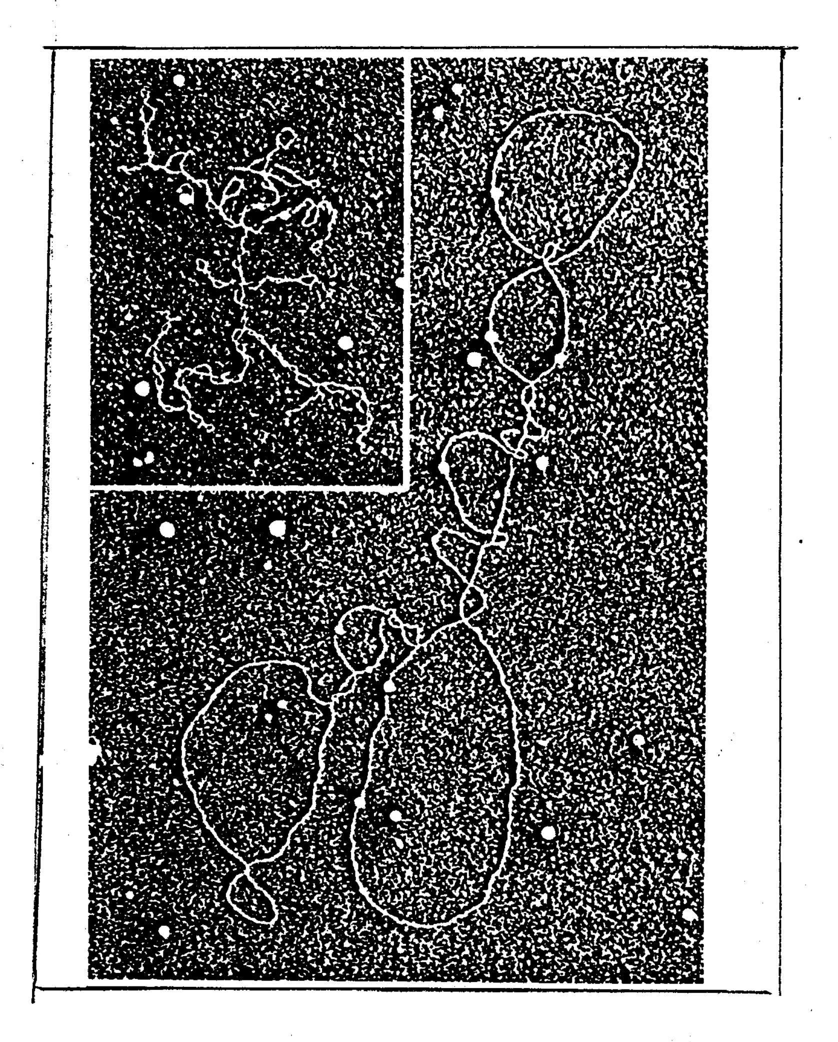
وتشير النتائج الحديثة لوجود إنزيمات بلمرة د ن أ أخرى في العضيات السيتوبلازمية .

تناسخ د ن أ الفاج لامبدا (λ) Lambda-phage

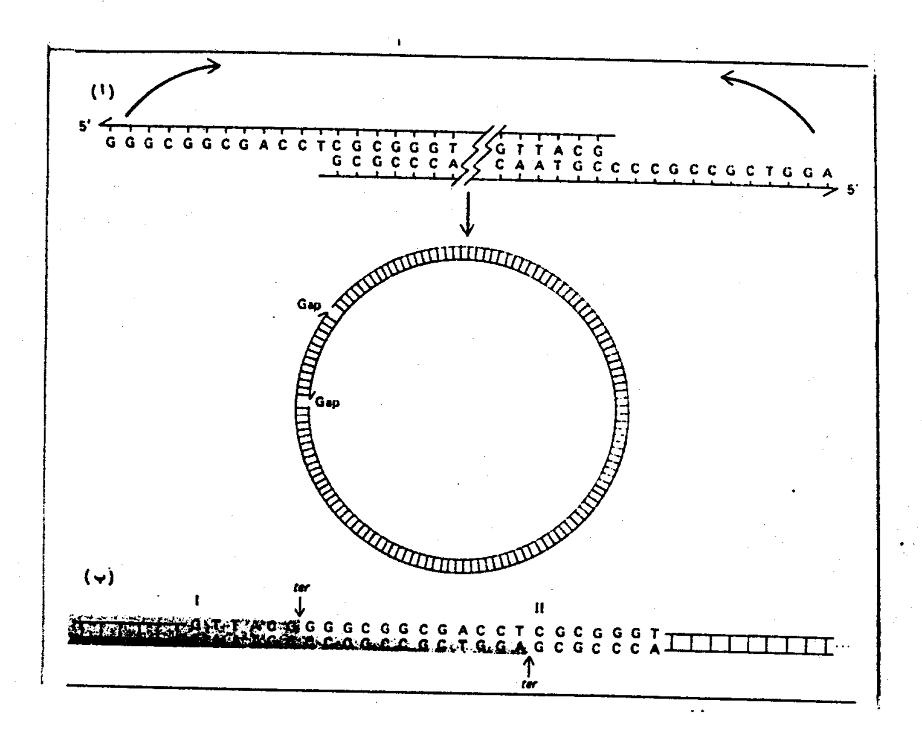
يمكن توضيح السمات الأساسية لتناسخ الد ن أ من خلال التجارب التي أجريت على بعض البكتريوفاجات ، وسوف نتناول فيما يلي تناسخ د ن أ الفاج لامبدا (λ) .

تتكون المادة الوراثية لهذا الفاج من جزئ د ن أ يبلغ طوله حوالي ١٧,٥ ميكرون . وهو من الفاجات التي تصيب بكتريا القولون (إ .كولاي)، والخيط الكروموسومي للفاج لامبدا فريد في نوعه ، حيث أنه يمتلك منطقة مفردة الخيط طولها ١٢ وحدة نوتيدية (١٢ قاعدة) عند النهاية ٥َ لكل خيط متكامل (انظر الشكل ٢ـ٢٤) . وهذه النهايات مفردة الخيط والتي تسمى بالنهايات اللزجة (sticky ends) تتكامل بمنتهى الدقة مع بعضها البعض في طرفي الخيط . ومن ثمّ فإنّ هذه الأطراف اللزجة لكروموسوم لامبدا يمكنها أنْ تتزاوج من خلال ترابط قواعدها التكاملية (هيدروجينيا) لتُشَكِّل تركيبا حلقيا .

ولقد بيّنت صور المجهر الالكتروني ، أنّ الكروموسوم لامبدا يتحول الى الصورة الحلقية بمجرد دخوله إلى خلية العائل ، ويتم ذلك بمساعدة إنزيم الليجيز (وهو إنزيم متواجد في جميع الكائنات الحية وهو ضروري للتناسخ وتصحيح ولحام جزيئات الد ن أ) . ويتناسخ كروموسوم لامبدا وهو على شكل دائرة بيضاوية — تماما كما يحدث في حالة تناسخ كروموسوم إ .كولاي . ولقد وُجِد أنّ تناسخ كروموسوم لامبدا ثنائي الاتجاه bidirectional ، حيث يبدأ التناسخ عند نقطة ابتداء (منشأ تناسخ) ، ثم يتقدم في اتجاهين بدلا من اتجاه واحد ، شأنه في ذلك شأن كروموسوم إ .كولاي (انظر الشكل (٢ — ٢٣) .



شكل (٢ ـ ٢٣) : كروموسوم البكتريوفاج لامبـــدا (λ)
وهو دائرى مزدوج ذو لفائف فوقحلزونيـــــة
التبأين فى عدد اللفائف يرجع لظروف بيئيـــــة ٠



شكل (٢ــ٢٤) :

رسم تخطيطى لكروموسوم الفاج لامبدا فى الوضع الطولى ،ثم فى الوضع الحلقى بعد دخوله خلية العائل .لاحظ النهايات اللزجة فى الأطراف ٥ . الخط الرأسى المتعرج يشير الى الجـــــزء الوسطى من الكروموسوم .طول هذا الكروموسوم حوالى ٤ر٥ $\times$ ١٠^{٤} زوج نوتيـــــــدى .

الحمض النووى الريبـــــوزى (الــ رنأ RNA)

يختلف الحمض النووى الريبـــــوزى رنأ RNA عن زميله الـ د نأ DNA فى النقاط التاليـــــــة :

١ — يحتوى على سكر الريبوز Ribose الخماسى لذرات الكربـــــون ، والذى به مجموعة هيدروكسيل (OH) فى الموقع C2' بدلا من ذرة الهيدروجين H فى ذات الموقع فى سكر الدى أوكسى ريبوز الموجـــود فى الـ د نأ (أى أن الفرق بين وحدتى السكر هو ذرة أوكسجيـــــن) .

٢ — يحتوى على القاعدة البيراميدينية يوراسيل Uracil (U =) كبديل للثيميـــن الموجـــــود فى الـ د نأ .

٣ — يتكون بصورة عامة من سلاسل فردية من متعددات النوتيـــــــدات يتراوح طولها ما بين ٥٠ الى حوالى ١٠٠٠ نوتيدة ، خاصة فـــى أنواع الـ رنأ ذات الوظائف النشطة فى التخليق الحيوى لنواتج الجينات فى الخلية ،وسوف نتناول ذلك بشىء من التفصيل فى باب لاحـــــق .

٤ — يتميز الـ رنأ بغياب التساوى بين نسبة الجوانين إلى السيتوســـــين ونسبة الادنين إلى اليورسيل (أى لاتنطبق عليه قاعدة شارجـــــاف) مما يشير إلى عدم وجوده فى صورة حلزون مزدوج، وكقاعدة عامة يوجـــد فى سلاسل فردية ، ويستثنى من ذلك حالات يتكون فيها الـ رنأ مـــن سلاسل مزدوجة كما هو الحال فى فيروس ريـــو Reovirus الذى يصيب الثدييات والذى يبلغ طول كروموسومه حوالى ٨ر٣ ملليميكـرون ، وفيروس أورام الجروح النباتية Wound tumor virus.

وبالرغم من وجود الـ رنأ فى صورة سلاسل نوتيدية مفردة الخيط ،فان قدرته على التحلزن عكسيا حول نفسه يساعد على ثباته .

٥ ـ بالنسبة لجزيئات الـ رنأ ذات النشاط التخليقى فى الخلية فهى تتكون من ثلاثة أنواع هى الريبوسومى (رنأ rRNA) Ribosomal RNA ، وحامل الرسالة (م٠ رنأ Messenger RNA (mRNA ومترجم الشفرة (ت٠ رنأ tRNA) Transfer RNA٠ وسوف نتناول هذه الانْواع ذات السلاسل مفردة الخيط (single stranded(ssRNA والقصيرة بوجه عام فى باب الشفرة الوراثية والتخليق الحيوى للبروتين ٠

وتشير كل الدلائل إلى أنّ كل أو معظم الـ رنأ فى الخلية له أصل نووى ويتخلق من قوالب Templates من الـ د نأ فى وجود إنزيمات خاصة تسمى إنزيمات بلمرة الـ رنأ RNA polmerases .

كما توجد إنزيمات ـ مثل إنزيم فسفرة الـ رنأ - RNA phosphorylase وظيفتها تكسير جزيئات الـ رنأ بعد تأديتها لوظيفتها ، حيث تستخدم النوتيدات الناتجة فى تفاعلات أخر ٠

أما فى حالة الفيروسات التى تتكون مادتها الوراثية من رنأ مزدوج الخيط (dsRNA) double stranded، فانها تتناسخ من خلال وسيط من الـ رنأ ٠ وتتميز هذه الفيروسات بأنها تتكون من خيوط طويلة من الـ رنأ ذات وزن جزيئى عالى قد يصل فى بعض الأحيان إلى أكثر من ٥٠ مليون دالتون ٠

وتتكاثر الفيروسات مفردة خيط الـ رنأ من خلال تكوين سلاسل تكاملية تسمى السلاسل السالبة (ـ) وهذه بدورها يتخلق عليها سلاسل موجبة (+) هى التى تكون الصورة الفعالة للفيروس ، كما هو الحال فى فيروس تبقع التبغ (TMV) ٠

أمثلة لأنواع الفيروسات وما دتها الوراثيـــــة :

١ـ فاجات مزدوجة خيط الدنأ (dsDNA) : مثل T2, T4, T6
وهذه قد تكون كروموسوماتها دائرية أو قضيبية ويبلغ طول كروموسومهـــا حوالى ٥٦ ملليميكرون ،وفاج T7 = ١٢ ملليميكرون وفاج لامبـــدا λ =١٧ ملليميكرون وهذه قضيبية الكروموسوم وذات تتابعات فريـــــدة unique sequences ،ثم فاج Ø80 =١٤ ملليميكرون، وهذا الفاج يتميز بأن لـــه شكل قضيبى بنهايات لزجة sticky ends وجميع الفاجات السابقة تصيب بكتريات القولون إ ٠كولاى ومنها أيضا الفاج P22 وطول كروموسومه ١٤ ملليميكرون ويصيب بكتريات السالمونيلـــلا ، ثم الفاج SP29 وطول كروموسومه ٨ر٥ ملليميكرون وهو يصيـــب بكتريات باسيلوس ستلـــــس٠

٢ـ فاجات مفردة خيط الدنأ (ssDNA) ٠ ومنها فاج Ø X174 الحلقى وطوله حوالى ٨ر١ ملليميكرون وهو يصيب إ ٠ كــــولاى ٠

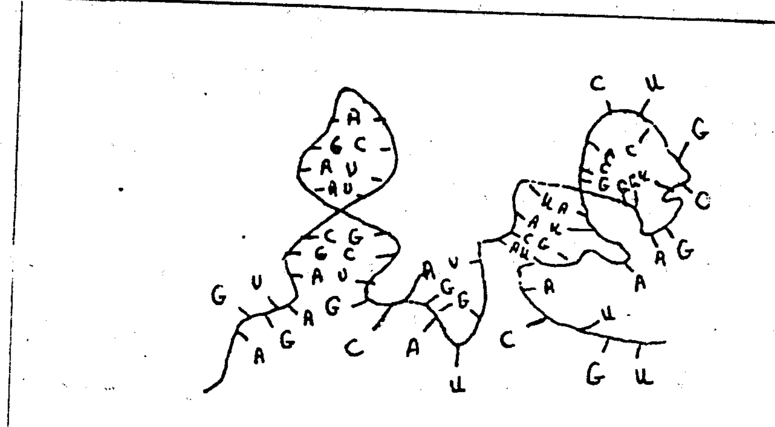
٣ـ فيروسات حيوانية ونباتية مزدوجة حلزون الدنأ (dsDNA) : وتشمل فيروس القوباء herpes (مرض جلدى) ،طوله كروموسومه حوالى ٥٣ ملليميكرون وهـــو يصيب الانسان ،كذلـــك فيروس SV40 المسبب لبعض الأورام السرطانية فى الانسان،ثم فيروس القنبيط Caulimovirus الذى يصيب نبات القرنبيط ٠

٤ـ فاجات مفردة خيط الرنأ (ssRNA) : وهذه تشمل فاج QB = ٤ر١ ملليميكرون والفاج R17 =١ر١ ملليميكرون وهى تصيب إ ٠كولاى وفيروس شلل الاطفال الآدمى Poliomyelitis.

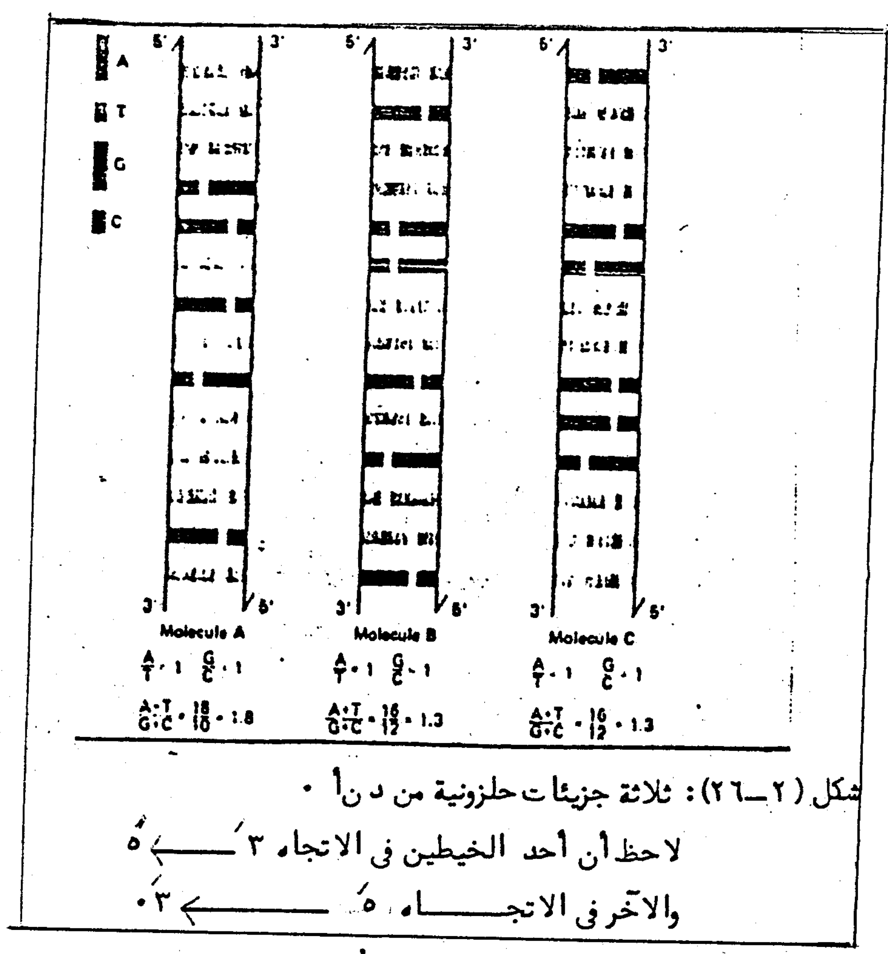
٥ـ فيروسات حيوانية ونباتية مفردة خيط الرنأ (ssRNA) : مثل فيـــروس

الحمى القلاعية Foot and mouth disease وهو يصيب البقـــر والجاموس • وفيروس TMV موزايك التبغ ،وفيروس الانفلونـــزا (الانســان) وفيروس مرض النيوكاسل فى الدجاج وفيروس اللوكيميا (سرطان الدم) فى الفــئران •

٦— فيروسات مزدوجة خيط الرنأ (dsRNA) مثل فيروس الريـــو Reovirus ويصيب الثدييات وفيروس أورام الجروح النباتية Wound tumor virus .



شكل (٢ ـ ٢٥) : خيط من الرنأ منثنى على نفسه ليكون تشكيلا مزدوجا ـ طبقا لنظم تكامل القواعد •لاحظ تزاوج الجوانين مع السيتوسين واليوراسيل مع الادنيــن •



شكل (٢ــ٢٦) : ثلاثة جزيئات حلزونية من د ن أ .
لاحظ أن أحد الخيطين فى الاتجاه ٣َ ←ـــــ ٥َ
والآخر فى الاتجـــــاه ٥َ ـــــــ← ٣َ .

العلاقة بين بناء الـ د ن أ وخصائصه الوراثيــــــة :

أ ــ الـ د ن أ كجزىء حامل للمعلومات الوراثية فى صورة شفريـــــة :

DNA as a coded molecule

يجب أن تحمل المادة الوراثية معلومات ــ وهذه هى الخاصية الأولى فى قائمة خصائصه . فبمجرد اقتراح التركيب البنائى للـ د ن أ ، فإنّ الطريقة العامة لقدرته على حمل الشّفرة لمعلومات وراثية أصبحت واضحة ، بمعـــــنى

أنّ تتابع القواعد على طول سلسلة متعددة النواتيدات يحتوى على هذه المعلومات. ومن ثمّ ، فإنّ سلسلة واحدة قد تقرأ أأأأ ث ث ... ، وثانية أأأ ث ث ... ، وثالثة ج ث أأ ث ث ... وهكذا إلى ما لا نهاية من احتمالات السلاسل . ويمكننا أنْ نتصوّر — وكما فعل كثير من علماء الوراثة فى حقبة الخمسينيات — أنّ تتابعا معيّنا من النوتيدات يُحَدِّدُ نوعية معينة من معلومات وراثية ، وتتابعا آخر يُحدّد نوعية أخرى .

ووجود معظم الـ د ن أ فى صورة مزدوجة لا يناقض إطلاقا هذه النظرية الغرضية . فببساطة نحن نعرض الفكرة ونقترح أنّ المعلومات الوراثية بجزىء مزدوج من الـ د ن أ موجودة على شكل شِفْرة من تتابع النوتيدات على طول السلسلتين مُتَعددّتى النوتيدات ، وقد سبق إيضاح هذا فى الشكل (٢ — ٦) وفيه يُسْتَعرض ثلاثة جزيئات مزدوجة فرضية من الـ د ن أ ، كلّ منها يحتوى على تتابع مختلف للنوتيدات . والقواعد فى جزيئات مزدوجة الحلزون كهذه — وكما رأينا فى سلاسل مفردة متعددة النوتيدات — مَرْصُوصَة بوجه مُسَطّح يعتلى الذى يليه على شكل عمود من العملات (الشكل ٢ — ٧) ، ولهذا فليس ثمة حدود كيميائية مجسمة مفروضة على ترتيب القواعد داخل الحلزون ، وهذا يعنى أنّ أىّ تتابع للنوتيدات يمكن أنْ يحدث داخل الحلزون ، طالما أنّ خيطى الحلزون مُوَجَّهان فى اتجاهات عكسية ، وأنّ القواعد فى خيط متكاملة مع القواعد التى فى الخيط الآخر .

لو أنّ الشفرة الوراثية منبثقة بالفعل من ترتيب النوتيدات فى جزىء الـ د ن أ ، لاستطعنا أن نتنبأ أنّ الأنواع المختلفة من الكائنات الحية المحتوية على معلومات وراثية مختلفة ستحتوى جزيئاتها من الـ د ن أ على تتابعات مختلفة للنوتيدات ، فى حين أنّ جميع جزيئات الـ د ن أ من نفس النوع ستكون متطابقة . وبالرغم من أنّ الطرق البيوكيميائية لم تتمكن خلال

حقبة الخمسينيات من تعيين تتابع قواعد الـ د ن أ ، إلاّ أنّ البناء الخاص بها ارتكز بالتأكيد على تجارب شارجاف السابق ذكرها • وقد رأينا من قبل أنّ تجارب شارجاف قد وطّدت شُمُوليّة القاعدة التى هى أن :

"أ = ث ، ج = س" • وعلاوة على ذلك ، فقد أوضحت بياناته أنه ليس ثَمَّة ضَرُورة للتشابه بين التركيب الكلى لنوتيدات الـ د ن أ المستخلصة من نوع ما والـ د ن أ المستخلص من نوع آخر من الكائنات الحية • ولو عَبّرنا عن التركيب الكلى للنوتيدات كنسبة $\frac{أ + ث}{ج + س}$ (العمود الاخير من الجدول ٢ ـ ٣) لوجدنا أنّ هذه النسبة تكون ١ فى حالة بكتريا القولون E. coli ، وتكون ١,٥٧ فى د • نيمونيا D. pneumonia ، وهَلُمّ جرا • وهذه هى النتيجة التى يمكن توضيحها بسهولة بافتراض أنّ الانواع المختلفة تحتوى على د ن أ مختلف فى تتابع نوتيداته (الشكل ٢ ـ ٢٦) • ومن ناحية أخرى عندما نقارن خلايا مختلفة تابعة لنفس النوع كخلايا الغدد التيموسية والكبد والحيوان المنوى فى الانسان ـ نجد أنّ جميعها يحتوى تقريبا على نِسَب متشابهة من $\frac{أ + ث}{ج + س}$ (الجدول ٢ ـ ٣) كما لو كانت جميعها مُهَيّأة بنفس المَعلومات الوراثية • وكما أوضحنا بالامثلة (الشكل ٢ ـ ٢٦) ، فانّ كلّا من تتابع النوتيدات وبنائها هما خاصتين ميزتين لجزىء الـ د ن أ • وفى أجزاء لاحقة ، سوف نوضح كيف يمكن نَسْخ وترجمة الشّفْرة الوراثية •

ب ـ الـ د ن أ كجزىء قادر ذاتيا على التناسخ : DNA as a self-replicating molecule

لقد أوْحَى نموذج الـ د ن أ ذو الحلزون المزدوج على الفور بطريقة دقيقة لتناسخه ذاتيا self replication ، وهذه هى الخاصية الثانية فى قائمة خواص المادة الوراثية ـ وقد رأى واطسون وكريك أنه بمجرد أنّ يَتَحدّد تتابع معين للنوتيدات فى خيط من الحلزون ، فانّ التتابع

على الخيط الآخر سيكون وبالضرورة متكاملا معه ويمكن على الفور التنبؤ به .
وكمثال : بمعرفة أنّ خيطاً ما يقرأ ٥َ . . . أ س ج أ ث . . . . . ٣َ ، فإنّ الخيط الآخر — متوخيا نُظُم اتحاد القواعد — سوف يقرأ ٣َ . . . ث ج س أ . . . . . ٥َ . ومن ثمّ فقد اقترح واطسون وكريك أنه بغرض أن خيطى حلزون ما سينفصلان بطريقة فك الحلزنة وبذلك يكونان معرضين لمحلول يحتوى على نوتيدات ، فان كلا من الخيطين سيعمل كقالب Template لتكوين خيط جديد متعدد النوتيدات ، وبالطبع ستكون تتابعات القواعد فى الخيوط الابنية الجديدة مُكمِّلة لتتابعات الخيوط الأبوية طبقا لنُظُم اتحاد القواعد كما هو موضح فى الشكل (٢—٢٧) ، وسيتكوّن عند نهاية هذه الجولة من التناسخ حلزونان جديدان ، كلّ منها يحتوى على خيط أبوى وآخر إبنى . وكل من الحلزونين الجديدين سيكون نُسْخَةً طبق الأصل من الحلزون الأصلى .

ويتميز هذا النموذج بأنه يقدم تفسيرا للكيفية التى يمكن بها للجزىء عند تناسُخِه من أن يُكوّن نُسْخة طبق الأصل لنفسه (الشكل ٢—١٦) . فلكى يتكاثر الـ د ن أ نسخيا فما على الحلزون المزدوج إلاّ أن يفصل سلسلتيه عن بعضهما ، وتجذب كل سلسلة النوتيدات السابحة فى البيئة المحيطة فى اتجاه قواعدها النيتروجينية وتُرْبَطُ بها بروابط هيدروجينية ثم تعمل الانزيمات المناسبة على ربط هذه النوتيدات ببعضها مكونة سلسلة جديدة لكل سلسلة أصلية من السلسلتين الأبويتين . وكما هو معروف من أنّ الأدنين يتزاوج مع الثيمين ، فنجد أنّ السلسلة المنفصلة (الأبوية) تجذب نوتيدات الثيمين فقط من البيئة فى مواجهة موقع الأدنين بها ، وكذلك الحال بالنسبة للسيتوسين مع الجوانين ، ومن ثمّ يمكن لأى سلسلة منفصلة أن تُكوّن سلسلة مماثلة تماما للسلسلة المكملة لها والتى انفصلت عنها . أى أنّ الجزىء إذن يمكنه نَسْخَ نفسه تماما ، ومن ثمّ ينقل تركيبه بالتساوى لكل نواتج الانقسام الخلوى .

ج ــ الـ د نأ كجزىء قادر على التعبير عن المعلومات الشفرية المخزنة فيه :

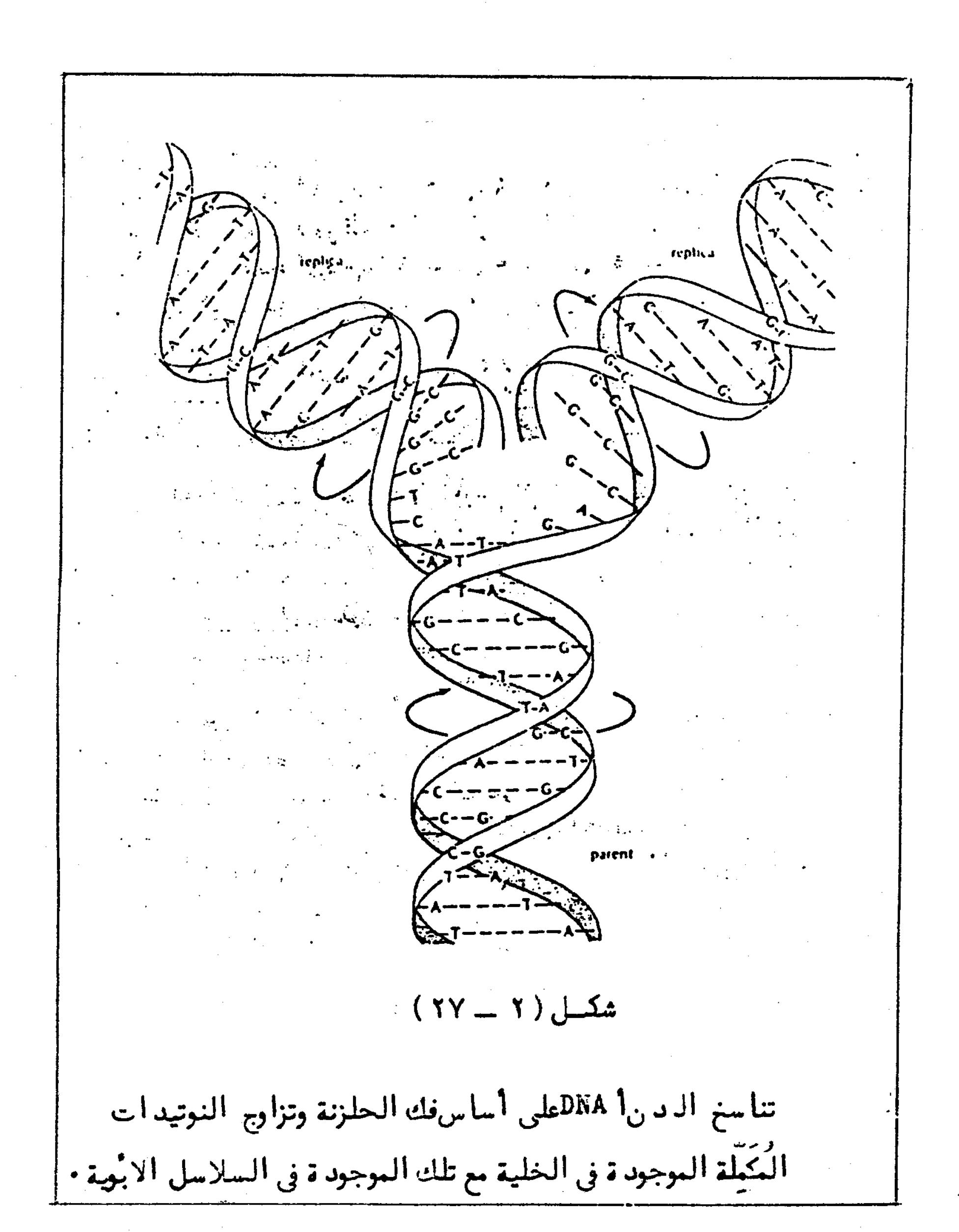
DNA is able to express coded information

كانت الخاصية الثالثة التى اشترطناها للمادة الوراثية هى أن تتمكن المعلومات الشفرية (المسجلة بطريقة الشّفرة) من التعبير عن نفسها بأسلوب ما ، بمعنى أن تُترجَمَ إلى عمليات كالنمو والتكشف. ولم يكن واضحا عند ظهور نموذج واطسون وكريك ــ كيف أنّ شِفْرة وراثية مكونه من تتابع لقواعد يمكنها أنْ تَكُونَ ذات أثر حيوى ، لكن قد تطور المفهوم بسرعة وهو أنّ تتابع النوتيدات فى جزىء الـ د نأ قد يُتَرْجَمْ translated إلى تتابع للأحماض الأمينية فى سلسلة فردية متعددة الببتيدات كهذه يمكن اعتبارها "جِيناً" . كما وقد أصبح واضحا أنّ الجينات لاتشترك فى تخليق متعددة الببتيدات ولكن يحدث أولا عملية نَسْخ transcription متطابق لتتابع نوتيداتها إلى التتابع المتكامل معها لنوتيدات جزىء الـ رنأ المعروف باسم الـ رنأ ــ حامل الرسالة Messenger RNA. وتقوم جزيئات الـ رنأ حاملة الرسالة هذه بعدئذ بالاشتراك فى تخليق متعددة الببتيدات. وسوف نناقش عمليات النسخ المتطابق والترجمة للجينات بشىء من التفصيل عند مناقشة موضوع التخليق الحيوى لبروتين الانزيم فى باب لاحق .

د ــ الـ د نأ كجزىء قادر ذاتيا على التباين : DNA as a molecule able for self variation

من وقت لآخر كانت القُدرة على التباين عن طريق الطفور والاتحادات الجديدة ، هى الخاصية الرابعة للمادة الوراثية . ومن أول وهلة يمكن أن نتصوّر حدوث عملية الطفور فى نموذج واطسون وكريك لأنّ أىّ تبديل فى تتابع النوتيدات ــ سواء كان فيزيقيا أو كيميائيا ــ سينتج عنه تغيير فى المعلومات المحتواة بجزىء الـ د نأ وبالتالى ستكون المحصلة تعديل فى

تكوين الخلية . وفى الحقيقة فانّ الأساس الفيزيائى والكيميائى للطفرة أمكن كشف خباياه فقط بعد اكتشاف بناء المادة الوراثية .



شكل (٢ — ٢٧)

تناسخ الدن أ DNA على أساس فك الحلزنة وتزاوج النوتيدات المُكَمِّلة الموجودة فى الخلية مع تلك الموجودة فى السلاسل الأبوية .

ويجدر بالذكر أنّ نموذج واطسون وكريك لم يقترح مباشرة ميكانيكية لتفسير الاتحادات الوراثية الجديدة . وما زال حتى الآن الأساس الفيزيائى للاتحادات الجديدة غير مفهوم جزيئيا .

أما كيفية حدوث الطفور الذى يؤدى إلى التباين فى المادة الوراثية ، فمما لا شك فيه أنّ هناك احتمالا لحدوث خطأ بالصدفة أثناء تزاوج القواعد أثناء عملية التكاثر النسخى ، إذ يمكن لنوتيدة ما أنْ تُستَبدل أو يحل محلها نوتيدة أخرى غير تلك المفروض تواجدها فى ذات المكان . فمثلا إذا كان هناك تسلسل للقواعد على صورة ....ATCGAA.. ، وأثناء التناسخ حدث خطأ أدّى الى أن يتغيّر التسلسل إلى ....ATTGAA.. ، فانّ ذلك سيؤدى إلى أنّ الجزيئات المتكونة فى النسل الناتج سوف تحمل هذا التسلسل الجديد مُشتملا على التغير الوراثى . واحتمال حدوث هذا الخطأ نادر جدا تحت الظروف العادية (حوالى ١ فى المليون أو فى البليون لكل نوتيدة) ، ولكنه نظرا لأنّ الظروف وقت تناسخ الجزىء ربما لا تكون مثالية ، ونظرا لأنّ جزيئات الدنأ DNA عليها مواقع تحمل العديد من النوتيدات التى يمكن أن يحدث فيها خطأ بالصدفة فانّ السلسلة الطويلة للدنأ قد يحدث فيها تغيير فى نوتيدة أو أكثر فى كل تكاثر نسخى .

وتجدر ملاحظة أنه عندما لا يوجد تساوٍ بين نسبة القواعد النيتروجينية المتكاملة بمعنى أنّ الجوانين لا يساوى السيتوسين ، والادنين لا يساوى الثيمين ، كما فى حالة البكتريوفاج ϕ X 174 ، فانّ ذلك يُستَخدم كدليل على وجود الدنأ ssDNA فى سلسلة فردية غير تكاملية non-complementary ، ومثل هذه السلاسل الفردية تسمى بالسلاسل الموجبة + (positive) ، والتى يمكنها بالرغم من ذلك إنتاج سلاسل سالبة - (negative) مُكَمِّلة لها خلال التكاثر النسخى ،

والتى بالتبعية تعمل على إنتاج سلاسل مُوجَبة أكثر وأكثر خلال الـــــتزاوج المنتظم للقواعد . وعليه ،فإنّه على الرغم من وجود سلاسل فردية فان نُظُم تكاثرها لازال يتوقع له أن يكون مَبْنيّاً أيضا على التزاوج التكاملى التام للقواعـــــد .

أسئلة وتمارين :

(١) مَيّز بين الآتى : بيورين — بيريميدين — نوسيدة — نوتيدة — متعددة النوتيدات — حلزون مزدوج .كيف تختلف هذه التراكيب فى كل مـــــن الد ن أ والـ رن أ ؟

(٢) إذا كان التتابع فى حلزون هو ٥َــــ أ ج س أ ج س أ ـــــ ٣َ ،فمـــا هو تتابع الخيط المُكمِّل فى حلزون من الد ن أ ؟ وفى حلزون من الـ رن أ ؟

(٣) لماذا يتطلب نموذج واطسون ـ كريك فكّ حلزنة الد ن أ قبل استنساخه ؟

(٤) خطط لتجارب مستعملا نظائر مشعة لتبين أن عملية التحول تحـــدث فقط عند دخول الد ن أ من طراز S الخاص ببكتريا الالتهاب الرئــوى الى خلايا من طراز R دُونَ البروتيـــــــــن ؟

(٥) أيّ من نسب القواعد التالية تتفق مع نموذج واطسون ـ كريك للـ د ن أ وأيها يتعارض معه ؟علل إجابتك فى كل حالـــــــة .

(أ) (ج + س) / (أ + ث) = ١

(ب) (ج + أ) / (س + ث) = ١

(ج) بيريميدينات / بيورينات = ١

(د) (ج + أس + أ) / ث = ١

(و) ج أ / س = ث

الباب الثالث

الخواص التركيبية لكروموسومات الكائنات مميزات النوى
Eukaryotic Chromosome Structure

مقدمة :

من المعروف أن معظم المعلومات المتوفرة لدينا عن تركيب وتناسخ الـ د ن أ قد جاءت من الدراسات التى أجريت على الكائنات بدائيات النوى Prokaryotes ، حيث أنها تتميز بالبساطة فى تركيب جينومها Genome (جهازها الوراثى) بالمقارنة بجينومات الكائنات مميزات النوى Eukaryotes. ففى بدائيات النوى تحتوى الخلية (وهى كائن واحد كما فى البكتريات) على نُسْخَة واحدة من الجينوم ، أىّ مجموعة واحدة من جينات الجهاز الوراثى الخاص بها ، وهذه غالبا ما توجد فى صورة كروموسوم واحد مُكوّن من خيط مزدوج من الـ د ن أ على شكل دائرة مغلقة تساهميا ، أو فى صورة خيط طولى مفرد أو مزدوج من الـ ر ن أ أو الـ د ن أ كما هو الحال فى الفيروسات.

أما فى حالة الكائنات مميزات النوى Eukaryotes وهذه تشمل الكائنات وحيدة الخلية كالخميرة والبراميسيوم مثلا ، والكائنات متعددة الخلايا كالحيوانات وكثير من النباتات فانها تكون ثنائية المجموعة ، أى تحتوى على مجموعتين من الجينات ، وبعض النباتات متعددة المجموعات تحتوى عدة نُسَخ من الجينومات حسب عدد مجموعاتها الكروموسومية . وفى هذه الكائنات نجد أنّ الـ د ن أ المُكوِّن لأجهزتها الوراثية موجود فى كروموسومات مختلفة مرتبطا مع أنواع مختلفة من البروتينات . وبناء على ذلك فإنّ كمية الـ د ن أ فى هذه الكائنات تفوق بكثير تلك الموجودة فى الكائنات

بدائيـــات النـــوى ٠

وفي الوقت الحاضر تتركز كثير من الدراسات الوراثية على وصف الخـواص الكيميائية والطبيعية لكروماتيـن الكائنات ميزات النوى ،وبالذات أثنـاء فترة الانترفيز (Interphase — ما بين الانقسامين) ،وكذلك علـى الميكانيكيات التى تؤدى إلى صَرّه في صورة كروموسومات ميتوزية محددة ٠

التركيب الكيماوى لكروموسومات الكائنات ميزات النوى :

كما سبق أن ذكرنا في الباب الثانى ،نجد أنّ التحليل الكيماوى للكروماتين المعزول من نوى الخلايا يتكون من الـ د ن أ وبروتينات ثقيلـة وكمية ضئيلة من الرن أ ٠ ويتكون البروتين من نوعين رئيسيين : الهستونات وهى بروتينات قاعدية (ذات شحنة موجبة عند درجة تعـادل أيون الهيدروجين pH ،واللاهستونات وهى غير متجانسة وذات طابـع حمضى (ذات شحنة سالبـة) ٠

الـ د ن أ الكروموسومى : Chromesomal DNA

(نظرية جزئ د ن أ واحد لكل كروماتيدة)

يُعْتَقَد في الوقت الحالى أنّ الد ن أ الموجود في كل كروموسوم مـن كروموسومات الخلية ميزة النواة ،يوجد في صورة جزئ واحد متصل علـى شكل لولب (حلزون) مزدوج طويل في كل كروماتيدة ٠ وتبين الدراسات التى أجريت أن القيمة الثابتة (قيمة C ،حيث C = تركيز د ن أ في النـواة) أى الكمية الكلية للد ن أ في النواة الأحادية لمختلف أنواع الكائنـات، تتباين كميا بدرجات كبيرة حسب الكائن المقدرة في خلاياه (الجدول ٣—١) ٠

جدول (٣-١) : محتوى النواة الواحدة من الد ن أ (قيمة C) لبعض الكائنات بدائيات ومميزات النوى (عن مكارثى ١٩٦٩)

الكائن		الوزن الجزيئى MW (وحدات دالتون)	عدد أزواج النوتيدات
الفيروسات:			
ـ بكتيرية :			
ØX 174		١ر٦ × ١٠^{٦}	٥٥٠٠
λ		٣٠ × ١٠^{٦}	٤٥ × ١٠^{٣}
T5		٨٥ × ١٠^{٦}	١٣٠ × ١٠^{٣}
T2		١٣٠ × ١٠^{٦}	٢٠٠ × ١٠^{٣}
ـ حيوانيـــة :			
فيروس جدرى الدجاج	Fowel poxvirus	٢٣٠ × ١٠^{٦}	٣٥٠ × ١٠^{٣}
البكتريات:			
ميكوبلازما جالى سيبتكم		٢و٠ × ١٠^{٩}	٣و٠ × ١٠^{٦}
هيموفلس انفلونـــــزا		٧و٠ × ١٠^{٩}	ـر١ × ١٠^{٦}
إ.كولاى (بكتريا المعى)		٦و٢ × ١٠^{٩}	ـر٤ × ١٠^{٦}

تابـــع جدول (٣-١) :

الكائن	الوزن الجزيئى (وحدات دالتون)	عدد أزواج النوتيدات
باسيلس ستلس	ســ٢ × $١٠^{٩}$	ســ٣ × $١٠^{٦}$
الفطريات:		
الخميرة (خميرة الخباز)	٩ × $١٠^{٩}$	ســ١٤ × $١٠^{٦}$
اللافقاريات:		
الاسفنج الانبوبى	٠و٦ × $١٠^{١٢}$	٠و١ × $١٠^{٩}$
السمك الرخـــو	٠و٢٠ × $١٠^{١٢}$	٠و٣ × $١٠^{٩}$
الدروسوفلا ميلانوجاستر	١و٢ × $١٠^{١٢}$	٠و٢ × $١٠^{٩}$
الفقاريات :		
الضفدع	٢٨ × $١٠^{١٢}$	ســ٤٥ × $١٠^{٩}$
السحالى (السلاماندر)	١٢٠ × $١٠^{١٢}$	ســ١٨٠ × $١٠^{٩}$
الدجـــاج	١ر٢ × $١٠^{١٢}$	ســ٢ × $١٠^{٩}$

تابـــع جدول (٣ـ١) :

الكائن	الوزن الجزيئى وحدات دالتون	عدد أزواج النوتيدات
الفأر المـــنزلى	ـــر٣ × $١٠^{١٢}$	٤ر٧ × $١٠^{٩}$
الانســـــان	٦ر٣ × $١٠^{١٢}$	٦ر٥ × $١٠^{٩}$
النباتات :		
أرابيد وبسيس ثاليانا	٦ر٢ × $١٠^{١٢}$	ـــر٤ × $١٠^{٩}$
الذرة الشاميـــــة	ـــر٢٠ × $١٠^{١٢}$	ر٣٠ × $١٠^{٩}$
التراديسكانشيا (بالودوزا)	ـــر٤٠ × $١٠^{١٢}$	ـــر٦٠ × $١٠^{٩}$

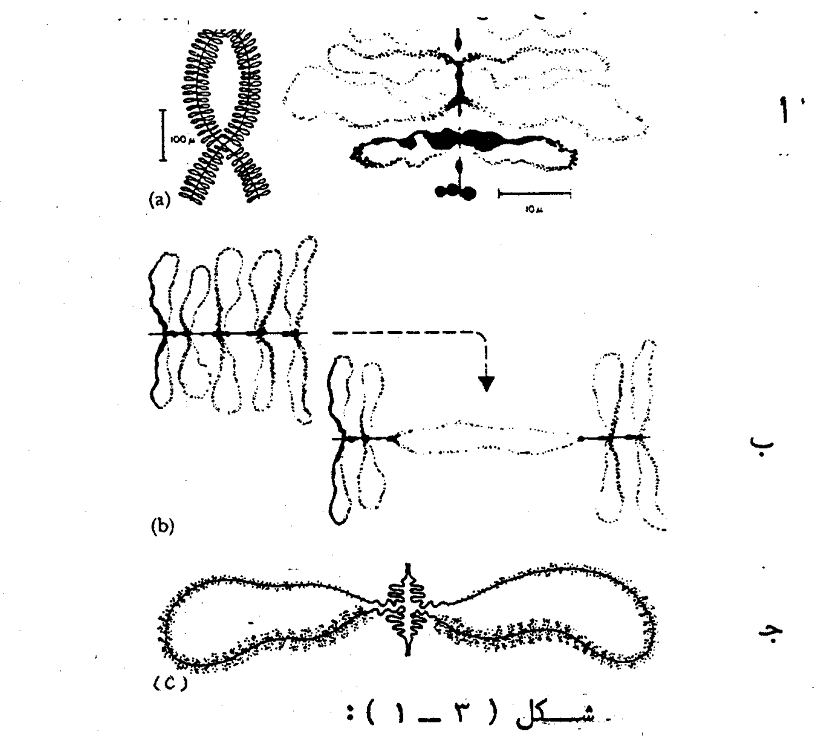
واذا قسمت القيمة الثابتة c الخاصة بنوع ما على العدد الكروموسومى الأحادى ،فيمكن حساب كمية الدنا التقريبية الموجودة فى كل كروموسوم (بافتراض تساوى أطوالها) . فعلى سبيل المثال ،من المعروف الآن أنّ المجموعة الكروموسومية الأحادية للانسان تحتوى على حوالى ١٠٠٠ ملليمتر من الدنا مزدوج الخيط (أى حوالى ٢٠٠٠ مم لكل خلية ثنائية) . وبتقسيم هذا الطول على ٢٣ كروموسوما نجد أنّ متوسط محتوى الدنا لكل كروموسوم حوالى ٤٫٣ سم ،وهذا يعادل حوالى ٦×١٠^١٠ دالتون كوزن جزيئى . ونظرا لاختلاف أطوال كروموسومات الانسان ،فقد وُجد أنّ محتوى كل كروموسوم يتراوح مابين ١٥ــ٨٥ مم من الدنا ،وهذه الخيوط الطويلة من الدنا يصعب فى الوقت الحالى عزلها دون تسكيرها إلى مقاطع .وكمثال آخر نجد فى خميرة الخباز أن قيمة c لها أصغر من الانسان وهى حوالى ٩×١٠^٩ دالتون ،وحيث أن عدد كروموسومات الخميرة الاحادى (ن=١٧ كروموسوما) ، إذن يكون متوسط محتوى الكروموسوم الواحد من الدنا مزدوج الحلزون حوالى ٥×١٠^٨ دالتون .

والسؤال الذى يطرح نفسه هل يوجد الدنا الذى قد يتراوح طوله ما بين ١ــ٢سم (١٠^٤ــ٢×١٠^٥ ميكرون) فى كروموسوم واحد يمتد من أحد أطرافه إلى الطرف الآخر فى صورة شديدة الحلزنة؟ أم هل يوجد العديد من جزيئات الدنا المتراصة بجانب بعضها ومرتبطة معا؟ فى الحقيقة هناك من الأدلة ما يدعم كلا الحالتين .

لقد قدمت الدراسات التى أُجريت على الكروموسومات الفرشائية (Lampbrush chromosomes) الموجودة فى خلايا البرمائيات Amphibians أقوى البراهين التى تدعم نظرية الخيط الواحد للدنا فى كل كروماتيدة من كروماتيدتى كل كروموسوم .فكل كروموسوم فرشائى

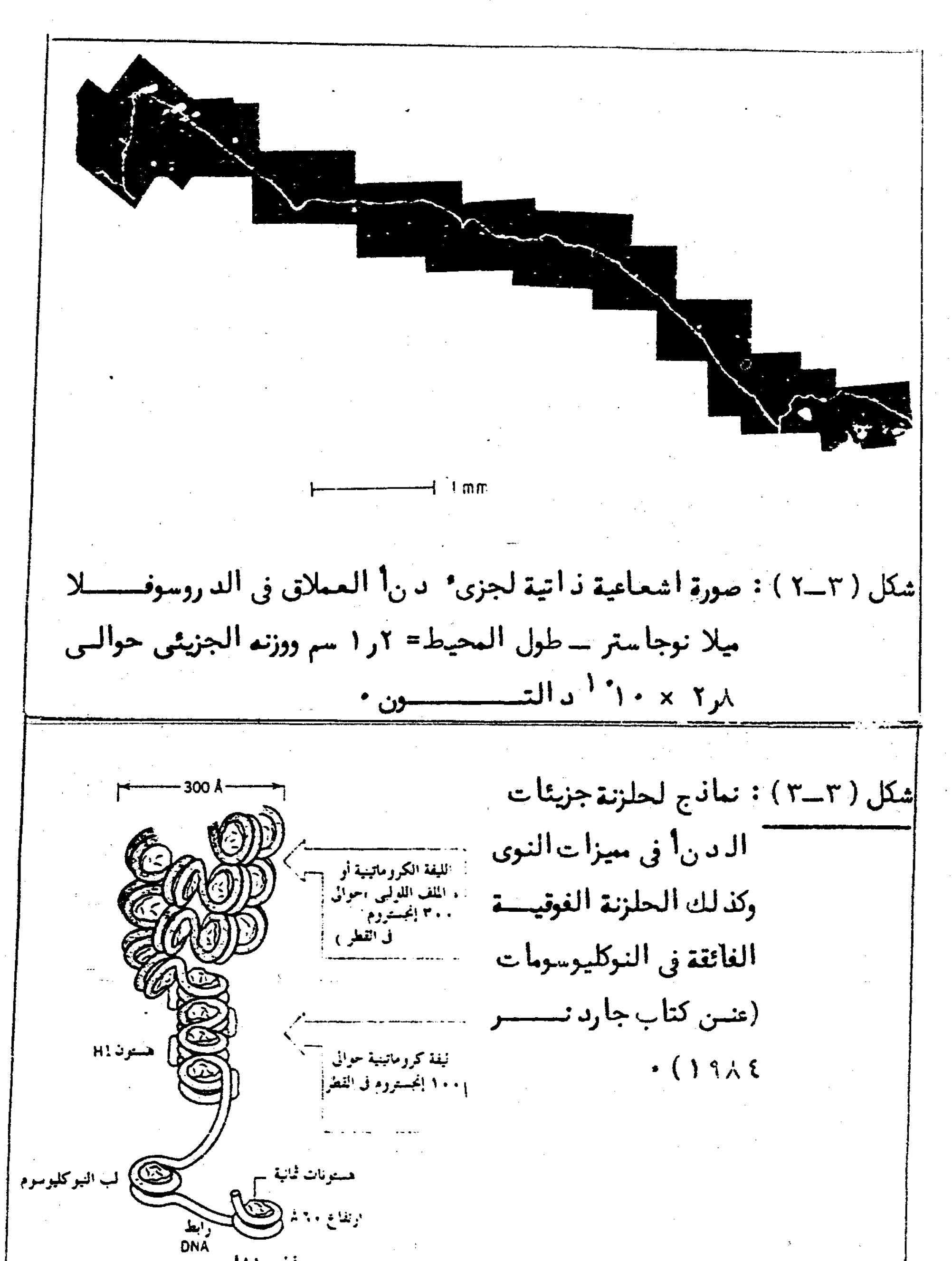
يحتوى على منطقة محورية مركزية تكون عند ها الكروماتيد تان الشقيقتان علـى د رجة عالية من التكاثف وتحتوى على العديد من أزواج العروات الجانبيـة (أنظر الشكل ٣ـ١) • وهذه العروات تمثل مناطـق مـن الكروماتيد ة الفردية ذات نشاط عالى فى عملية النسخ Transcription. وتعتمد المحافظة على خواص كل من المحور المركزى والعروات الجانبيـة على سلامة واستمرارية الـ د ن أ فى الكروماتيد ة • ولقد وُجدَ أنّ المعاملـة بانزيم الدينيز DNase تؤدى الى تكسير كلٍّ من المحور والعروات ، بينما المعاملة بانزيم الرينيز RNase والبروتييز تؤدى الى استبعـاد مادة الماتركس Matrix الموجودة بالمحيط الخارجى ،لكنها لاتؤثر على استمرارية أى من المحور أو العروات• وبينت صُوَر المجهر الالكترونـى للكروموسومات الغرشائية المعاملة بانزيم الرينيز RNase وجود خيـط رفيع مركزى يبلغ قطره حوالى ٢٠ أنجستروم فى العروات الجانبية .ولما كانت كل عروة تمثل مقطعا من كروماتيد ة واحدة ،وحيث أن قطر الحلزون الواحـد من الـ د ن أ هو ٢٠ أنجستروما (الباب الثانى) ،إذن لابد أن تكون هـذه الكروموسومات الغرشائية مكونة كروماتيد اتها من حلزون مزد وج واحد من الـ د ن أ •وقد أيّدت النتائج المتحصل عليها من د راسة أثر الهضم بانزيـم النيوكلييز على الكروموسومات الغرشائية صحة كون كل كروماتيد ة مكونة مـن خيط مزد وج من الـ د ن أ •

والآن إذا كان كل كروموسوم (كروماتيد ة) فى خلايا الكائنات ميـزات النوى يحتوى على جزىء واحد كبير من الـ د ن أ فكيف يمكن لهذا الجـزىء الطويل الذى قد يبلغ طوله ا سم أو أكثر (حسب طول الكروموسوم) وسمكـه حوالى 5×10^{-6} سم أنْ يُصَرّ فى تشكيل من عدة ميكرونات ؟ إن هـذا الجزىء الطويل والرفيع للغاية لايمكن فصله د ون أنْ يَتكسّر فى أنبـوبة



شكل (٣ ـ ١) :

مخطط يوضح تركيب أحد الكروموسومات الفرشائية فى البرمائيات . (أ) رسم تخطيطى للوحدة الثنائية . ناحية اليمين المحور الرئيسى بأزواج متماثلة من العروات. (ب) جزء من كروموسوم فرشائى يوضح استمرارية خيط الـ د ن أ والمحور الرئيسى . (ج) زوج واحد من العروات يوضح استمرارية جزىء الـ د ن أ الذى يمتد خلال العروة والمنطقة المحورية لكل كروماتيدة . مادة الماتركس عبارة عن ر ن أ بادى ينتج من النسخ transcription على الـ د ن أ الممتد فى مناطق العروات (عن كتاب Principles of Genetics, Gardner, 1984).



شكل (٣ـ٢) : صورة اشعاعية ذاتية لجزىء د ن أ العملاق فى الد روسوفـــلا ميلا نوجاستر ـ طول المحيط= ٢ر١ سم ووزنه الجزيئى حوالى ٨ر٢ × ١٠^١٠ دالتـــون •

شكل (٣ـ٣) : نماذج لحلزنة جزيئات الـ د ن أ فى ميزات النوى وكذلك الحلزنة الفوقيـــة الفائقة فى النوكليوسومات (عـن كتاب جارد نـــر ١٩٨٤) •

الاختبار . فلقد بينت الدراسات التى أجريت على كروموسومات الدروسوفلا ميلانوجاستر أنّ أكبر جزيئات الـ د ن أ فى خلايا هذه الحشرة يبلغ حوالى ٣ر٤ × ١٠^١٠ دالتون ،وقد أيدت الصور الإشعاعية الذاتية لجزيئات الـ د ن أ فى الدروسوفلا مفهوم أن جزيئات الـ د ن أ تكون مماثلة لحجم الكروموسوم . ولقد وُجد أنّ أكبر الجزيئات يبلغ طوله حوالى ٢ر١ سم ،فكيف يتجمع جزئ د ن أ طوله ٢ر١ × ١٠^٨ أنجستروم وله قطر ٢٠ أنجستروم فى تشكيل مثل كروموسومات الطور الاستوائى للخلية ؟ لقد بينت صور المجهر الالكترونى لكروموسومات الطور الاستوائى المعزولة وجود كتل من الخيط المتحلزنة حول نفسها بشدة (الشكل ٣ـ٢) قطر كل منها حوالى ٣٠٠ أنجستروم تمتد تكاثفت بشدة .ومن المعروف الآنّ أنّ الـ د ن أ يلتف حول نفسه على شكل حلزنة فائقة Supercoiling حول جزئ الهستون الثمانى لينتج تشكيل يسمى النوكليوسوم Nucleosome بقطر حوالى ١١٠ (Å) أنجستروم ويظهر التشكيل ذو القطر ٣٠٠ أنجستروم لو عاودت خيوط النوكليوسوم الحلزنة مرة أخرى فى مستوى أعلى من الحلزنة الفائقة (أى حلزنة super-supercoiling الشكل ٣ـ٣) .

البروتين الكروموسومى : Chromosomal Proteins

يوجد الـ د ن أ الكروموسومى مرتبطا بدرجات مختلفة مع نوعين أساسيين من البروتين ـ الهستونات Histones واللاهستونات non-histones ـ ليكون خيط البروتين النووى .

الهستون : الهستونات هى بروتينات قاعدية ،أى أنها تحمل شحنة كهربية موجبة عند درجة الحموضة الفسيولوجية . وهذه الشحنة تُحمَل فى مجموعات ن يد$_3^+$ فى الأحماض الأمينية الليسين والأرجنين (أنظر الشكل ٣ـ٤)،

وهذه الأحماض تمثل نسبة هامة تتراوح ما بين ٢٠–٣٠٪ من الـوزن الجزيئى لكل الأحماض الأمينية لكل جزئ من الهستون . وعلاوة على ذلـك تميل أحماض الليسين والأرجنين الى التجمع على شكل عناقيد ناحية أحـد أطراف الهستون ، وبذلك يكون أحد أطراف البروتين حاملا لشحنة موجبة مركزة للغاية . وكما هو معروف فان الـ د ن أ يحمل مجموعات فوسفاتية فوأ عاليـة الشحنة السالبة على طول هيكله . ومن المعتقد أن هذه الشحنات السالبة تتفاعل مع أطراف جزيئات الهستون موجبة الشحنة مكونة مركب شديـد الترابط يسمى "الهستون النووى" . ويوجد فى معظم الخلايا خمسة أنـواع أساسية من الهستونات ، وكل نوع يختلف فى محتواه النسبى من أحمـاض الأرجنين والليسين ، كما يتضح من الجدول (٣–٢ و الشكل ٣–٥) .

جدول (٣–٢) : مواصفات الهستونات الموجودة فى الغدة التيموسية للعجول

فئة الهستون	المكون	نسبة الليسين : الأرجينين	المجموع الكلى للأحماض الأمينية	الوزن الجزيئى (دالتون)
غنى جدا فى الليسين	H1	٢٢,٠	٢١٥	٢١٥٠٠
غنى فى الليسين	H2A	١,١٧	١٢٩	١٤٠٠٤
	H2B	٢,٥٠	١٢٥	١٣٧٧٤
غنى فى الأرجنين	H3	٠,٧٢	١٣٥	١٥٣٢٤
	H4	٠,٧٩	١٠٢	١١٢٨٢

$H_3N^+-C(H)-C(=O)O^-$ — $(CH_2)_3$ — NH — C=NH — N^+H_3

أرجنين

$H_3N^+-C(H)-C(=O)O^-$ — $(CH_2)_4$ — N^+H_3

ليسين

شكل (٣ ــ ٤) :
تركيب الحمض الأمينى ليسين والحمض الأمينى أرجنين اللذين يحملان شحنات موجبة (+) عند درجة تعادل تركيز أيون الهيدروجين •

جل طويل

H_4 H_{2A} H_{2B} H_3 H_1

جل قصير

شكل (٣ــ٥) : جزيئات بروتين الهستون الخمسة التى توجد فى الكروماتين النووى لكل الكائنات مميزات النوى • كما تظهر عقب التفريد الكهربى فى جل الأكاريل أمايد •

ويبدو أنّ الانواع الخمسة الرئيسية من الهستون النووى ثابتة من خلية لاخرى ومن نسيج لآخر ٠ولايوجد دليل قاطع على وجود أنواع معينة من الهستونات خاصة بخلايا معينة ـ ويستثنى من ذلك خلايا الحيوانات المنوية ،حيث أنّ الدنا الموجود فى هذه الخلايا غالبا ما يفقد معظم هستوناته ويصبح مرتبطا مع أنواع أخر من البروتينات القاعدية ٠

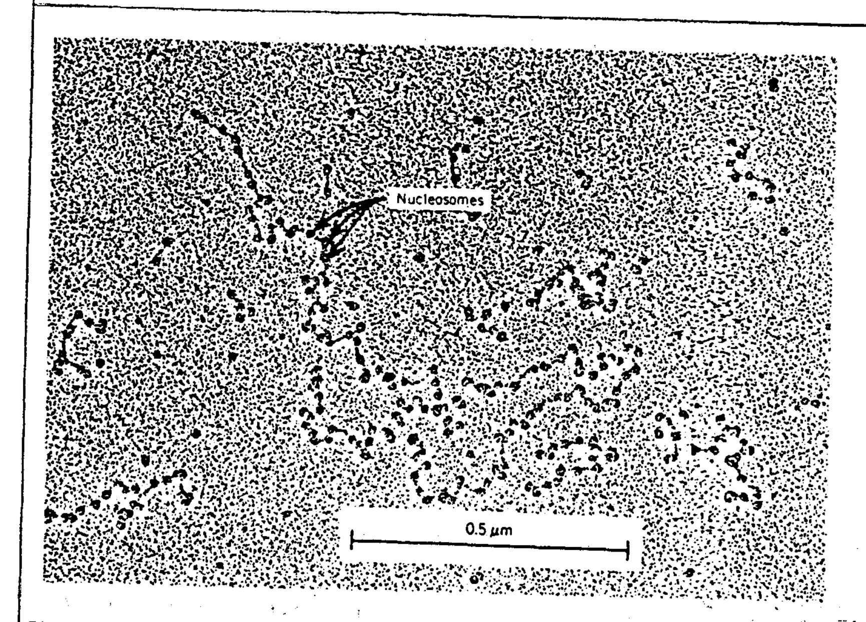
وتوجد الهستونات والدنا بنسب متساوية تقريبا على أساس وزن بوزن فى كروماتين الثدييات ٠وتستمر هذه النسبة طوال دورة الخلية نتيجة للتلازم الشديد بين تخليق الهستونات والدنا ٠

ويتم بناء الهستونات أثناء طور التخليق (S) فقط ٠ بدليل أن إعاقة مستحدثة تجريبيا لتناسخ الدنا تؤدى إلى التوقف السريع فى التخليق الحيوى للهستونات٠ وبنفس الطريقة وُجِد أنّ تعطيل تخليق الهستونات يؤدى الى توقف تناسخ الدنا ٠

الأجسام النووية (النوكليوسومات) : Nu-bodies(Nucleosomes)

بين الفحص بالمجهر الالكترونى للكروماتين المفصول من نواة الخلية بطريقة هادئة وجود تراكيب على شكل حبات المسبحة ٠ وقد تكون الحبيبات منفصلة أو متصلة بخيوط دقيقة ،ويتوقف ذلك على طريقة التحضير ٠ وتسمى كل حبيبة "الجسم النووى " أو "نوكليوسوم " "أو "جسم نو Nu-body (أنظر الشكل ٣ـ٥) ٠ويبلغ قطر كل جسم نووى حوالى ١١٠ أنجستروم ٠

ويمكن فصل هذه الأجسام عن بعضها بسهولة بمعاملة الكروماتين بانزيم النوكلييز المستخلص من بكتريا الاستفافيلوكوك ٠وقد أمكن دراسة اشكالها ومكوناتها باستفاضة ٠وكما يتضح من الشكل (٣ـ٦) يُرَى حلزون يدخل ويخرج من النوكليوسوم من نفس الجانب ،وبذلك يكون عروتين loops متجاورتين تحتويان على حوالى ١٤٠ زوجا من قواعد الدنا ،كما توجد





شكل (٣ـ٦) : أعلى: صورة بالميكروسكوب الالكتروني لكروماتين خلايا كبد الفأر توضح النوكليوسومات (عن جاردنر ١٩٨٤) . أسفل: نموذج مُجسّم للنوكليوسوم (أوجسم نو) من الصلصال واللدائن الانبوبة ـ حيث تتداخل جزيئات الهستون من الشمال للجنوب ومن الشرق إلى الغرب مكونه اتصالات مع الدنا في منطقتين (عن كتاب الوراثة ـ جودينف ١٩٧٨) .

ثمانية جزيئات من بروتين الهستون تملأ الجزء المركزى للجسم النـــــووى حيث تكوّن اتصالات مع الحلزون فى مراكز محددة . وجزيئات الهستون الموجودة فى الجسم النووى منتظمة التركيب وهى تشمل : جزيئين من النـــوع H2A ،وجزيئين من النوع H2B ،وجزيئين من النوع H3 وجزيئين من النـــــوع H4 .أما الجزئ H1 فهو وسيلة ربط بينها .

وظيفة الأجسام النوويـــــة :

يعتقد علماء الوراثة أن الجين المتوسط يتكون من حوالى ١٠٠٠ — ١٥٠٠ زوج من النوتيدات ذات تتابعات محددة بمنتهى الدقة . ومن ثـــمّ فإنّ الجسم النووى الواحد (حوالى ١٤٠ زوجا نوتيديا) يعتبر صغيرا جـدا لأنْ يكون جينا ،خاصة وأنه لايحتوى على تتابع نوتيدى معين . ويبــــدو أنّ تكوين الجسم النووى ربما يكون "وسيلة حَزْم" تؤدى الى ضغــــــط جزيئات الدنا الطويلة المنزلقة لتصبح فى حالة أكثر سهولة فى التحــرك .

بروتينات اللاهستــــــونات: Non-Histone proteins

توجد نوعيات أُخَر من البروتينات — خلاف الهستونات — تنفصل مع الـدنا فى الكروماتين المُنَقّى . وتكون هذه البروتينات ضعيفة جدا فى ارتباطها بالدنا بالمقارنة بالهستونات . ويوجد على الاقل ٢٠ نوعا رئيسيا مــــن هذه البروتينات ،قد تشمل بداخلها بضع مئات من البروتينات البسيطـــة . ولقد ازداد الاهتمام بهذه البروتينات خاصة بعد ما بينت بعض التقارير العلمية انّ بعضاً من هذه البروتينات قد تتواجد بوفرة فى أنواع معينة من الانسجة أكثر من غيرها . ويبدو أن هذه البروتينات تلعب أيضا دورا تركيبيا فـــــى بناء الكروموســـــــوم .

الكروموميـــــرات: Chromomeres

أثناء الطور التمهيدى فى كل من الانقسام الميتوزى والانقسام الميوزى وعند ما تدخل الكروموسومات فى عملية تكاثف ،تظهر تحت المجهر الضوئى فى التحضيرات النموذجية ،وحدات سبحية على طول كل كروموسوم (انظر الطور التمهيدى فى كلا الانقسامين) .ويلاحظ أن كل حُبيْبَة من هذه الحُبَيْبَات تكون أكبر كثيرا فى الحجم من الجسم النووى (النوكليوسوم) .ويطلق على كل واحدة منها اسم كروموميرة .وهناك اعتقاد بين علماء الوراثة والوراثة السيتولوجية أنّ هذه الكروموميرات قد توازى الجينات أو تجمعات صغيرة من الجينات .ويُستَدَلّ على ذلك من الكروموسومات البوليتينية الموجودة فى الغدد اللعابية ليرقات حشرة الدروسوفلا (انظر الشكل ٣ ــ ٧) ، حيث يظهر كل شريط من الشرائط الموجودة على هذه الكروموسومات وكأنه مكون من كروموميرات مُرْتَصّة جنبا الى جنب كما يتضح ذلك من الشكل (٣ ــ ٧) .

ويعتقد أيضا أن الكروموميرات لها علاقة جوهرية بالشرائط التى تشاهد فى الكروموسومات الميتوزية .وكما هو معروف فان شرائط جيمزا (شرائط G) السميكة التى تظهر على الكروموسومات فى الطور الاستوائى ،تنشأ من التآلف المتزايد لعدد من الشرائط الدقيقة التى ترى أثناء الطور التمهيدى المتأخر . وعند فحص النوى فى الطور التمهيدى المبكر أو المتوسط ،فانه يمكن رؤية حوالى ٢٠٠٠ ــ ٣٠٠٠ وحدة من الوحدات الداكنة والباهتة من شرائط جيمزا .وهناك اعتقاد أن هذه الوحدات تقابل الكروموميرات ،ومن الواضح أنها تتجمع مع بعضها لتكون شرائط الطور التمهيدى المتأخر .ولما كانت التقديرات تشير الى أن عدد الجينات المكونة للطاقم الجينى للانسان يتراوح ما بين ٣٠٠٠٠ ــ ٥٠٠٠٠ ،فان



شكل (٣ـ٧) : الكروموسومات العملاقية الموجودة فى خلايا الغدد اللعابية ليرقات حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر (وغيرها من يرقات حشرات رتبة ذات الجناحين) . لاحظ مركز تجمع الهيتروكروماتين (الكروموسنتر والشرائط العرضية .

كل كروموميرة من كروموميرات الطور التمهيدى المبكر والتى تقدر بعد آلاف، قد تشمل عددا محدودا من الجينـــات.

الهتروكروماتيـــن و اليوكروماتيـــن :

هناك اعتقاد بأن التكاثف الذى يحدث للكروماتين فى مرحلة الانقسـام الميتوزى فقط من دورة الخلية ،يتم بواسطة نوع معين من الكروماتين يسمى "الهتروكرماتين الخَلْقِى Heterochromatin " .وطوال فترة ما بيـن الانقسامين يظل الهتروكروماتين الخَلقِى متكاثفا ولذلك يكون شديد القابلية للصبغ. أما النوع الآخر من الكروماتين فيسمى "اليوكروماتين(الحقيقـــى). Euchromatin "وهو على العكس من النوع الأول يكون أقــل قابلية للصبغ ،كما أنه يملأ بقية النواة . وفى نواة ما بين الانقساميـــن (Interphase)توجد كتل من الهتروكروماتين تسمى "مراكز تجمـع الكروماتين" أو الكروموسنترز Chromocenters "،وهذه غالبـا ما تلتحم مع بعضها مكونه مركزا كبيرا مركبا،ويكون الهيتروكروماتين أكثر تكاثفا عن بقية الكروماتين فى الطور التمهيدى المبكر بينما فى الطور التمهيـدى المتأخر يمكن تمييزه فى المناطق التى تلتحم فيها الكروماتيدات مع بعضها .

ولقد بينت الدراسات السيتولوجية أنه يمكن تمييز مناطق هتروكروماتيـن خِلقِى بوضوح كبير باستعمال طريقة أخرى لكشف الشرائط وذلك فـــى كروموسومات الطور الاستوائى ،وهذه الطريقة تعطى ما يسمى بشرائـــط C ،حيث الحرف C اختصار للكلمة Constitutive

وهذه الشرائط تحتل دائما مناطق كروموسومية معينـــة :

ـ فى الفأر المنزلى : تنحصر شرائط C فى مناطق السنترومير فى كـــل الكروموسومـــات.

— في الدروسوفلا : تشمل شرائط C كل الكروموسوم Y وحوالى ١/٣ — ١/٢ الكروموسوم X وحوالى ١/٤ كل كروموسوم من الكروموسومين وسطيى السنترومير (الكروموسومين رقم ٢ ، ٣) •

ويختلف نوعا الكروماتين عن بعضهما اختلافات واضحة •فالهيتروكروماتين الخِلْقِي يختلف عن اليوكروماتين في نماذج تكاثفه وأيضا في نماذج تناسخه أثناء دورة الخلية •ففي كل من الدروسوفلا والانسان — مثلا — نجد أنّ تناسخ الهيتروكرماتين الخَلْقِي ينحصر في فترة قصيرة متأخرة عن مرحلة التخليق S لذلك فهو يتعرض لنفس المعاملة المميزة من إنزيمات الاستنساخ • وعلاوة على ذلك •ففي أثناء دورة الخلية غير النموذجية — كما هو الحال في الغدد اللعابية ليرقات حشرات ذات الجناحين (مثل الدروسوفلا) — والتي تؤدى إلى تكوين الكروموسومات البوليتينية ، فانّ سلوك التناسخ المتأخر للهيتركروماتين الخَلْقِي يؤدى إلى ضَعْف التناسخ •بمعنى أنّ المقاطع الكروموسومية الغنية بهذا النوع من الكروماتين تكون مُمَثّلَة بمرات قليلة من الكروموسومات البوليتينية•بينما تُنْسَخ بقية الهيئة الجينية حوالى ١٠ مرات •

وبالاضافة إلى ما سبق •فإنّ الهيتروكروماتين الخِلْقِي يختلف عن اليوكروماتين في المحتوى الوراثي •حيث تشير التحليلات الوراثية إلى أنّ الهيتروكروماتين يحتوى على عدد قليل جدا من الجينات أو قد لايحتوى على أى من الجينات الفعالة •وعلاوة على ذلك فإنّ تتابعات قواعد الدنا للهيتروكروماتين الخِلْقِي تختلف عن مثيلاتها في اليوكروماتين • وأخيراً وُجِد أنّ الهيتروكروماتين يمكنه أن يؤثر في تعبير الجينات المحمولة في مناطق اليوكروماتين المجاورة له في نفس الكروموسوم (وتلك ظاهرة وراثية

معروفة باسم "تأثيرات الموضع Position Effects وهـــى المسئولة عن التبرقش في الد روسوفـــــــــــــلا) .

التنظيم الجزيئى للـ د ن أ فى كروموسومات بد ائيات ومميزات النوى :

بالرغم من أن الجهاز الوراثى للخلية البكتيرية (بد ائية النواة) يشبـه إلى حد كبير الجهاز الوراثى للخلية مميزة النواة فى كونه يشمل جميـــــع الامكانيات الوراثية اللازمة لاستمرارية النوع ، كما أن وجود هذا الجهاز فـــى صورة كروموسوم مفرد يشبه بمجموعـــة أحادية لخلية مميزة النواة ، إلا أن هنـاك بعض الاختلافات الجوهرية بين التنظيمين الوراثيين ، نستعرضها فيمايلـى :

(١) الجهاز الوراثى للخلية البكتيرية يختلف عن مثيله فى الخلية مميـــزة النواة فى كونه يتشكل فى صورة كروموسوم واحد دائرى الشكل مغلق تساهميا ، فى حين يتشكل الجهاز الوراثى للخلية مميزة النواة فـــى صورة عدد من الكروموسومات طولية التنظيـــــم .

(٢) يخلو الكروموسوم البكتيرى من الهستونات الموجودة فى كروموســـــات مميزات النـــــوى .

(٣) يتميز الكروموسوم البكتيرى بغياب عملية الحلزنة وفك الحلزنة أثنـاء دورة الخلية كما هو الحال فى مميزات النــــــوى .

(٤) توجد اختلافات على المستوى الجزيئى بين د ن أ كروموسومات الكائنات مميزات النوى و د ن أ كروموسوم الخلية بد ائية النواة . وهـــــذه الاختلافات الجزيئية تشمل : أ ـ الكمية ، ب ـ التركيب الكيميائـــــى ، جـ ـ نظم تتابع القواعد . وهذه الاختلافات على المستوى الجزيئـــــى غير معروف حتى الآن أهميتها بالضبط ، إلاّ أنّ علماء التطـــــور

يعتقدون أنها تؤثر على الخط الفاصل ما بين الكائنات بدائيات النوى والكائنات مميزات النوى ،وأنها ترتبط بالتعقيد الوراثى الذى تَتّسِم بـه الكائنـــات مميزات النـــوى •

وفيما يلى سوف نتناول هذه الاختلافات الجزيئية بشئ من التفصيل :

أولا : الكمية الكلية للدنأ :

تختلف الكمية الكلية للدنأ فى الخلية مميزة النواة عن تلك الموجودة فى الخلية بدائية النواة • فقد تبلغ كمية الدنأ فى الخلية مميزة النواة حوالـى أكثر من ألف ضعف تلك الموجودة فى الخلية البكتيرية ، وحوالى ١٠٠ ألـف ضعف كميته فى الفيروس وربما أكثر من ذلك فى البكتريوفاج (انظر الجدول ٣ـ ١ و الشكل ٣ـ٨) • وبالرغم من ذلك فقد يختلف كلا نوعى الكائنات كل فيما بينه فى محتوى الدنأ فى الخلية • فعلى سبيل المثال تحتوى نواة خليـــة آدمية كمية من الدنأ أقل من تلك الموجودة فى خلية السلمندر وينطبـــق ذلك على معظم أنواع الكائنات الاخرى (أنظر الشكل ٣ ـ ٨) •

الثدييات
البرمائيات
الاسماك
الحبليات البدائية
الطحالب
البكتريا
الفيروسات
10^4 10^5 10^6 10^7 10^8 10^9 10^{10} 10^{11} 10^{12}
حجم الهيئة الجينية (ازواج نوتيدات لكل فيروس او لكل خلية احادية)

شكل (٣ـ٨) :مقارنـــة كمية الدنأ فى الخليـــة الواحدة فى كائنـــات متزايدة التعقيد فـــى سلم التطور كل خـــط يشير الى الحدين الادنى والاعلى •فى الثدييـــات الكمية محسوبة علـــى اساس الخلية الاحادية ـلاحظ فى الثدييات ـ وجود نفس الكمية تقريبـــا •

ثانيا : التركيب الكيميائى المقـــــارن :

يختلف تركيب جزيئات الـ د نأ الخاصة بكل من ميزات وبدائيات النوى ، وطبقا لما أوضحه شارجاف (الباب الثانى) وغيره ، يمكن التعبير عن الـ د نأ الخاص بنوع مـا من الكائنات كنسبة ميزة من $\frac{أ + ث}{ج + س}$ ، أو كنسبة مئويـة من (ج + س) ، أو كمية الـ ج س . فاذا فرضنا أنّ كائنا يتميز بقيمة ج س = ٣٠٪ ، فيعنى هذا أنّ ج = ١٥٪ وس = ١٥٪ و أنّ أ = ٣٥٪ و أنّ ث = ٣٥٪ من قيمة الـ د نأ الكلية . وتتباين النسبة المئوية لـ ج س فى مختلف أنواع البكتريات ما بين ٢٤ ــ ٧٥٪ (انظر جدول شارجاف ، جدول ٢ ــ ٣) . وينطبق نفس التباين فى تركيب القواعد فى عينات الـ د نأ من فيروسات مختلفة . ولكــن الملاحظ عند التحرك الى درجات أعلى مـــن سلّم التطور ، أن كميـــة الـ ج س تصبح أقل تباينا ، لدرجة أنها قد تصل إلى حوالى ٤٠٪ فـــى الثدييات . وحتى الآن لا يعرف لماذا تحتوى الثدييات على كمية ثابتـــة نسبيا من الـ ج س بمقارنتها بالكائنات بدائيات النـــــوى ؟ .

ثالثا : نُظُم تتابعات القواعد المقـــــارن :

توجد ثلاث سِماتَ خاصة تميز الـ د نأ الموجود فى نواة ميزة عـــــن قرينه الموجود فى النواة البدائية وهـــى :

أ ــ وجود كمية أكبر من الـ د نأ فى الخلية ميزة النـــواة .

ب ــ يتميز الـ د نأ فى الخلية ميزة النواة بدرجة أعلى من الثبات فى نسبـــة الـ ج س عن قرينه فى بدائيات النـــــوى .

ج ــ الـ د نأ فى ميزات النوى غير متجانس لأنه يظهر شظايا توابع فى محلول كلوريد السيزيوم عند تقدير كثافة التـــدرج لـــه .

ولقد بيّنت التحليلات التى أجريت بالطرق الكيميحيوية أنّ نُظم تتابعات القواعد فى جزيئات الـ د ن أ المستخلص من نوى الكائنات مميزات النوى تختلف اختلافا جوهريا عن تتابعات القواعد لـ د ن أ بدائيات النوى .

فقد وُجد فى كروموسومات الكائنات بدائيات النوى أن جزيئات الـ د ن أ ذات تتابع فريد لازواج القواعد Unique DNA sequence ، بمعنى أن تتابعات أزواج القواعد غير مكررة ، وهذا يبين أن كل جين ممثّل مرة واحدة فى كل جينوم (باستثناء بعض الجينات الخاصة بالحمض النووى الريبوسومى) . واذا قُطّعت كروموسومات بدائيات النوى إلى شظايا كثيرة وصغيرة وعُرّضت إلى عمليات تحديد التتابع Sequencing ، فانّ كل شظية fragment سوف تحتوى على تتابع مختلف من أزواج القواعد عن الشظايا الأخرى . فعلى سبيل المثال ، وجد عند عزل د ن أ بكتريا القولون (إ . كولاى) وتقطيعه إلى شظايا ، ثم تعريضه الى الطرد المركزى فى محلول كلوريد السيزيوم Cesium chloride لتحديد تدرجة الكثافى density gradient حتى الاتزان ، أن هذا الـ د ن أ يكوّن حزمة واحدة فى التدرج . وتظهر هذه الحزمة عند كثافة د ن أ قياسى يحتوى على حوالى ٥٠٪ من أزواج القواعد أ ـ ث و ٥٠٪ ج ـ س .

أما تتابعات أزواج القواعد فى د ن أ كروموسومات الكائنات مميزات النوى ، فهى تقع فى طُرُز مختلفة . فعند إجراء التدرج الكثافى لـ د ن أ معزول من بعض هذه الكائنات ظهرت فى محلول كلوريد السيزيوم حزمة د ن أ رئيسية Major DNA band ، بالاضافة إلى عدّة حِزَم أخرى تسمى الحزم التابعة Satellite bands ، ويسمى الـ د ن أ فى هذه الحزم بالـ د ن أ التابع (stDNA) Satellite DNA . وعندما أجريت عمليات تحديد تتابع أزواج القواعد لـ د ن أ هذه الكائنات وجد أنه يقع فى أربعة طُرُز هى :

(١) تتابعات النسخة الواحدة : Single copy sequences

وهذه — كما هو الحال فى د ن أ بدائيات النوى تسمى تتابعات فريدة (unique sequences) وفى معظم الكائنات ميزات النوى ، يُشكِّل د ن أ النسخة الواحدة حوالى ٧٠٪ من الد ن أ الكروموسومى ، بالرغم من أن ذلك لايعنى بالضرورة أن ٧٠٪ من جينوم هذه الكائنات تحتوى على جينات . فاذا فرض أنّ جميع الد ن أ الفريد يمثل جينات ، لتوقعنا أن هيئة جينية أحادية نموذجية فى الثدييات (تتضمن ٣ بيكو جرام من د ن أ) تحتوى على $\frac{١}{٢}$ مليون جين . ولما كانت معظم التقديرات تشير إلى أنّ الحد الأعلى لعدد الجينات فى هيئة جينية أحادية للثدييات هو حوالى ٥٠٠٠٠ جين ، فيعنى ذلك أن الجزء الفريد من الد ن أ فى ميزات النوى يحتوى على حوالى ١٠ أضعاف ما يحتاج إليه من الشفرة الوراثية . وقد يوجد فائض مماثل فى جينوم إ . كولاى . ولايعرف حتى الآنّ وظيفة الد ن أ الفريد الزائد . وقد وجد أن شظايا د ن أ وحيدة التكرار تكون بطيئة جدا عند محاولة إعادة التحامها من جديد .

(٢) التتابعات عالية التكرار للد ن أ : Highly Repetitive DNA sequences

عُزلت شظايا د ن أ من ميزات النوى وعند محاولة إعادة التحامها وجد أنها سريعة الالتحام . وعند ما حللت هذه الشظايا وجد أنها تمثل د ن أ عالى التكرار للهيئة الجينية ميزة النواة . ويقصد بعالى التكرار هنا هو أن مقاطع من تتابعات الد ن أ تتكرر بكثرة بنفس التتابع على طول الهيئة الجينية .

وقد وجد أن الد ن أ عالى التكرار يمثل حوالى من ٥ — ١٠٪ من جينوم الكائنات ميزات النوى (ويستثنى من ذلك بعض هذه الكائنات مثل

حشرة الهاموش (Chironomus) وفى غالبية الحالات يتكون هـــذا الـ د ن أ من تتابعات قصيرة للقواعد مكررة تلو الأخرى وبمعدل يتراوح ما بيـــن ١٠ ٥ـ ١٠ ٧ تكرار الكلّ جينوم • وحيث أن هذا الجزء المكرر كثيراما يكـــون مختلفا فى متوسط تركيب القواعد عن الجزء الأكبر من د ن أ الهيئة الجينيـــة ميزة النواة ، وأن هذا الـ د ن أ عالى التكرار كثيرا ما يُظهر شرائط فى موقـــع تابع من محلول كلوريد السيزيوم للتفريد ، لذلك فإنّ الـ د ن أ التابع والـ د ن أ عالى التكرار كثيرا ما يكونان مترادفيـــن •

وعلى سبيل المثال ، فى د ن أ تابع معزول من نوى خلايا خنازير غينيـــا وجد أن تتابع الوحدة الأساسية للتكرار CCCTAA / GGGATT يتكرر مرة تلو الأخرى على طول مسافات طويلة من جزىء الـ د ن أ المزدوج • وقد يحدث بمرور الزمن تجمع لطفرات بداخل هذا الـ د ن أ التابع ، لدرجة قد يوجـــد أحيانا جزيئى معدل من د ن أ يكون له التابع CGCTAA / GCGATT ، وأن جزيئا آخر يحتوى التابع CCATAA / GGTATT وعلى الرغم مـــن ذلك يُحتَفَظ بنموذج التكرار الأساسى ذى أزواج القواعد الست • وفـــى الكابوريا توجد عينات د ن أ تابع ذات وحدات رباعية ، وفى الدروسوفلا تكـــون الوحدات المتكررة خماسية • وفى الـ د ن أ التابع I للبقر يتكرر ذلك كـــل ١٤٠٠ زوج قاعـــدى •

(٣) التتابعات متوسطة التكـــرار Middle Repetitive sequences

تمثل تتابعات الـ د ن أ متوسط التكرار حوالى ١ ـ ٣٠٪ من الهيئـــة الجينية للكائنات ميزات النوى • ويتراوح تكرار هذه التتابعات ما بين مرات قليلة إلى عدة مئات من الآلاف فى الهيئة الجينية الواحدة • وهذا الطـــراز من الـ د ن أ غير متجانس بدرجة عالية جدا بالمقارنة بالطراز عالى التكـــرار •

وعند ما يُقَطّع هذا الطراز من الـ د نأ إلى شظايا ثم يعاد التحامه فإنّ ذلك يتم بسرعة متوسطة مابين الطراز العالى والفريد (شكل ٣ — ١٠) .

(٤) تتابعات الـ د نأ ذوات التكرار المعكوس: Fold-back DNA sequences

قد يطلق على هذا الطراز من تتابعات الـ د نأ اسم "البالندرومات" (Palindromic sequences) ومن أمثلتها البالندروم palindreme

5'GGCC 3'
3'CCGG 5'

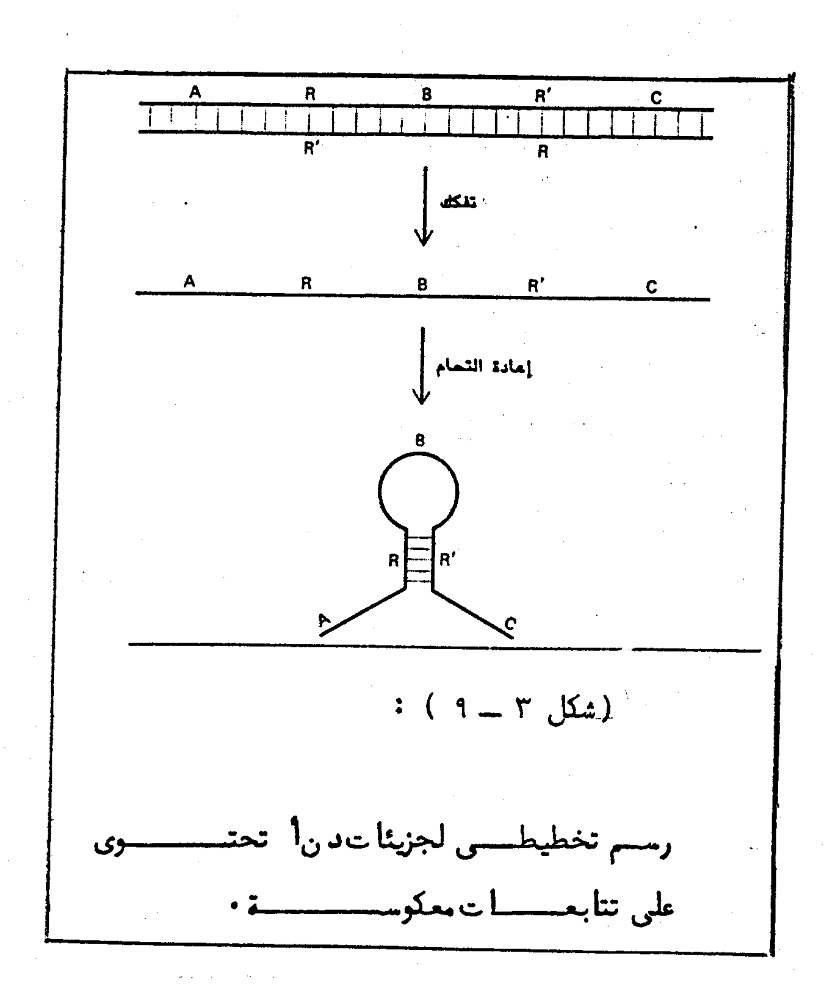
والبالندروم

5'GAATTC 3'
3'CTTAAG 5'

عند ما يفكك الـ د نأ من هذا الطراز ثم يعاد التحامه ، فان الخيوط المفردة منه تجد تتابعاتها المعكوسة على نفس خيوطها ، وهى تلتف للخلف حتى ترتبط معها ، وهذا الالتفاف للخلف لا يتطلب تصادم الشظايا مع بعضها ، لذلك فهو يحدث بسرعة فائقة . وعند اختبار جزيئات فردية من الـ د نأ ذى الالتفاف المعكوس المعزول من الدروسوفلا بالمجهر الالكترونى ، نجد أنّ ٨٠٪ منه يحظى بالرسم الموضح فى الشكل (٣—٩) . ويقدر عدد التتابعات ذات التكرار المعكوس فى كل من الانسان والضفدع البحرى (Xenopus) بحوالى ١٢٠٠٠٠ تتابع مما يدل على أن هذه التتابعات ترتبط بالجينات ووظائفها للتحكم فى عملية النسخ أو إعادة تكوين التوافيق الوراثية . كما ثبت من تقنيات الهندسة الوراثية أن هذه البالندرومات تمثل مواقع تأثير لانزيمات القطع البينية المتخصصة Restriction enzymes والتى تستخدم فى قطع شظايا محددة من الـ د نأ لاستخدامها فى تحريك الجينات وتشييد جزيئات د نأ مطعمة Recombinant DNA molecules ، وهناك اعتقاد بين علماء الوراثة الجزيئية بأن تتابعات الـ د نأ ذوات الالتفاف

الخلقى لها القدرة على التجول فى الهيئة الجينية للكائنات مميزات النـوى ،
وهذه يطلق عليها اسم "الجينات القافزة Jumping Genes "
"أو العناصر المتحركة Transposable Elements or Transposons".
وسوف نتناول هذه النـوع من العناصر الوراثية فى أبواب لاحقـــة .

ويعتقد أن الطرز المختلفة لتتابعات الـ د ن أ فى مميزات النوى لهـا وظائف ذات أهمية قصوى فى السيطـرة على تعبير وانتقال المعلومـات الوراثية فى هـذه الكائنـات.



(شكل ٣ ـ ٩) :

رسم تخطيطـى لجزيئات د ن أ تحتـوى على تتابعـات معكوسـة .

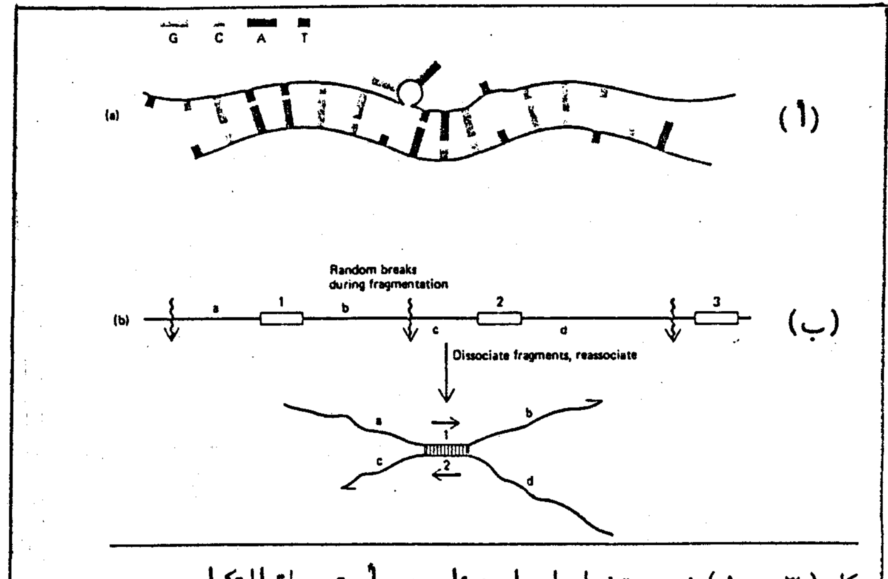
جدول (٣ـ٣) : قاعدة تحويل العوامل للحساب التقريبي للدنا مزدوج الخيط (قاعدة ثمب Rule of Thumb)

متوسط الوزن الجزيئي لزوج واحد من النوتيدات= ٦٦٠ دالتون تقريبا

١ بيكو جرام ($١٠^{-١٢}$ جم) دنا مزدوج = تقريبا ٦ x $١٠^{١١}$ دالتون
= تقريبا $١٠^{٩}$ زوج نوتيدى

١ ميكرون دنا مزدوج = تقريبا ٢ x $١٠^{٦}$ دالتون
= تقريبا ٣ x $١٠^{٣}$ زوج نوتيدى

١ جين وظيفى St. gene = تقريبا $١٠^{٣}$ زوج نوتيدى



شكل (٣ــ١٠) : رسم تخطيطي لجزيئات دنا متوسطة التكرار .

(أ) مزدوج دنا مشوه ، الخيطان متكاملان ، لكن أحيانا تشذ بعض القواعد .

(ب) تكوين تراكيب مزدوجة الشوكة " .

الباب الرابع

نظم التوارث خارج النطاق النووى
(Extranuclear Inheritance Systems)

مقدمة :

فى أنظمة الوراثة التقليدية يُفترض أنّ الجينات التى تتحكم فى صفات الكائن تكون محمولة فى الكروموسومات وهى المكون الأساسى لنواة كل خلية . ولكن ظهرت حالات من التوارث لم يمكن تفسيرها إلاّ على أساس فرض وجود عناصر وراثية تقع خارج نطاق النواة . وفى هذا الباب سوف نتناول بشىء من التفصيل عدة أنظمة وراثية غير تقليدية والتى تكون فيها الجينات التى تتحكّم فى بعض الصفات تقع خارج نطاق الأنظمة النووية . ولما كانت هذه الأنظمة الوراثية متباينة فى ميكانيكياتها فقد وُصفت بأسماء عدة مثل :

أ ـ الوراثة اللامندلية Non-Mendelian Inheritance

ب ـ الوراثة اللاكروموسومية Extrachromosomal Inheritance

جـ ـ الوراثة اللانووية Extranuclear Inheritance

د ـ الوراثة السيتوبلازمية Cytoplasmic Inheritance

هـ ـ الوراثة أحادية الأبوة Uniparental Inheritance

و ـ الوراثة الأمية Maternal Inheritance

كما سميت الجينات المتحكمة فيها باسم "الجينات البلازمية Plasma genes" أو "العناصر الوراثية السيتوبلازمية Cyto-plasmic elements" ولايضاح مدى تباين هذه الأنظمة نسوق الأمثلة التالية : تحتوى خلايا البكتريات على كروموسوم رئيسى دائرى مفرد

يشمل غالبية الجهاز الوراثي للخلية ، وقد تحتوى الخلايا البكتيرية على عناصر إضافية من الـ د ن أ تسمى البلازميدات Plasmids ،وقد تم حديثا اكتشاف مثل هذه العناصر فى خلايا كثير من الكائنات ميزات النوى ، كما أنّ خلايا جميع ميزات النوى تحتوى على د ن أ إضافى يقع ضمن عضياتها السيتوبلازمية كالميتوكوندريات والبلاستيدات بجانب هيئتها الكروموسومية الرئيسية • كما وُجِد أنّ بعض الفيروسات والبكتريات والطحالب تتأهّل كعناصر تعيش خارج النطاق الكروموسومى فى خلايا أخر ،وقد تطور هذه الكائنات علاقة تكافلية symbiotic مستديمة مع عوائلها وتصبح جزءا من نظامها الوراثى • كما وُجِدَ أنّ خصائص أسطح خلايا بعض الكائنات ميزات النوى قد تحتوى على معلومات وراثية يمكن أنّ تتحوّر بتأثير البيئة وتتوارث مستقلة عن كروموسوماتها الرئيسية • ولقد تناولنا هذه الأنظمة مع بعضها لوجود تشابهات وصفية معينة فيما يلى،مثل :

(١) نُظُم توارثها — غالبا وليس دائما — مُميّز عن توارث الجينات النووية المحمولة فى كروموسومات الكائنات ميزات النوى ،أوفى الكروموسوم الرئيسى فى البكتريات •

(٢) فى كثير من الأحيان تتناسخ مادتها الوراثية فى وقت مختلف عن وقت تناسخ الكروموسومات النووية أو الكروموسوم الرئيسى البكتيرى •

(٣) قد تختلف الانزيمات المتدخلة فى تناسخ مادتها الوراثية عن إنزيمات التناسخ الخاصة بالمادة الوراثية الأساسية للخلية •

(٤) فى بعض الأحيان قد تكون المعلومات الوراثية المخزنة فى المواد الوراثية الموجودة خارج النطاق النووى غير ضرورية لحياة الكائن ،بالرغم من أنّ ذلك ليس صحيحا فى حالات عديدة وهامة •

(٥) بعض هذه العناصر الوراثية قد تكون ذات مواقع فيزيائية خارج النواة ،

مثل خصائص خلايا بعض الكائنات ميزات النوى التى تكون أسطحها حاملة لمعلومات وراثية قد تتحوّر بظروف البيئة وتتوارث مستقلة بعيدا عن كروموسوماتها الرئيسية .

(٦) بعض العناصر الوراثية من ذات النوع قد تقع داخل النواة أو خارجها الا أنها لا تتبع المسالك الوراثية للكروموسومات الرئيسية ، وقد تتأهل هذه العناصر لمثل هذا النظام من التوارث ، ومن أمثلة ذلك البلازميد 2Um فى الخميرة والعنصر كوبيا copia فى الدروسوفلا وبعض العناصر المتنقلة Transposable elements فى بعض الكائنات ميزات النوى .

وفى الأنظمة الوراثية التقليدية لميزات النوى وفى أنظمة التوارث البكتيرية تجد أنّ مجموعة الكروموسومات ، أو الكروموسوم الرئيسى تحمل معظم جينات الكائن ، كما أن نظم انتقال هذه الكروموسومات هو المسيطر على الأنظمة المعروفة للتوارث . وفى هذه الحالة نجد بعض الجينات اللانووية قد تؤدى وظيفتها المتواضعة بجانب هذه الأنظمة الأساسية ، الا أنها قد تكون ذات أهمية للكائن .

وسوف نتناول فى هذا الموضوع النقاط التالية :

أ ــ البلازميدات البكتيرية Bacterial plasmids وهى تمثل أصغر الهيئات الجينية فى البكتريات .

ب ــ بلازميدات الكائنات ميزات النوى Eukaryotic plasmids

جـ ــ الدنأ الميتوكوندرى mtDNA وكلاهما (أ + ب) تمثل أصغر الأطقم الجينية المعروفة فى خلايا ميزات النوى .

د ــ الدنأ البلاستيدى plDNA فى الكائنات النباتية .

إنّ التحليل الوراثى المتكامل لهذه العناصر الوراثية اللانووية هو الهدف المنشود لباحثى البيولوجيا الجزيئية

وعلماء الوراثة والهندسة الوراثية خلال العقد الأخير من القرن العشرين والعقد الأول من القرن الحادى والعشرين • ودراسة مثل هذه العناصر يعطى للقارئ فكرة واضحة عن أساليب الوراثة الجزيئية •

أدلة التوارث اللانووى فى الكائنات مميزات النووى :

توجد مجموعة من الظواهر الوراثية التى يُستَدَل منها على أن سلوك بعض الصفات ربما يعتمد على وجود مواد وراثية خارج نطاق النواة ،وفيما يلى ملخص لهذه الظواهر :

(١) باستثناء حالات الارتباط بالجنس فى الكائنات الحيوانية ،وظاهرة التنافر الذاتى فى النباتات ،فانّ أختلاف نتائج التلقيحات العكسية Reciprocal crosses عن السلوك المندلى العادى — يشير الى أن الصفات المتوارثة تعتمد على جينات لانووية •

(٢) وجود صفات تتوارث عن طريق الامّ فقط — دون الأب ،وهذا يعزى إلى أنّ مصدر سيتوبلازم الزيجوت الناتج هو خلية البيضة — وليس الحيوان المنوى — ويستثنى من ذلك حالات التوارث الأبوى Paternal Inheritance مثل جينات الخصوبة فى ذكر الدروسوفلا وصفة الجلد الحرشفى فى الانسان (Scaly skin) والتى تكون جيناتها محمولة فى الكروموسوم Y وليس لها نظير على كروموسوم X ،وهى تعرف بالوراثة الهولاندرية •

(٣) اذا ثبت عدم ارتباط أى من جينات الصفات المتوارثة بأى من كروموسومات الخلية ،فان ذلك ربما يشير الى أن الصفة تحت الدراسة تخضع لسيطرة جين لانووى •

(٤) إذا أمكن تغيير مظهر الصفة اصطناعيا بالمطفرات التى لا تؤثـــر على النواة ــ أى استحداث الطفرات السيتوبلازمية ،فان ذلك يشيـــر الى كون الصفة تعتمد على عنصر وراثى لا نــــــووى ٠

(٥) بعض الصفات لها عضيات Organelles فى السيتوبلازم تسيطر على سلوكها الوراثى ــ مثل البلاستيدات فى النباتات الخضر (حـــالات التبرقش فى الدورانتا) ،ومثل الميتوكوندريات (حالات نقص التنفـــس فى الخميرة) وهذه الصفات تكون مرتبطة بسلوك هذه العضيـــات٠

(٦) غياب أو عدم ظهور الانعزالات المندلية ونسبها المميزة والتى تعتمد على دورة الكروموسومات الميوزية ،قد يشير الى التوارث اللانـــووى ٠

الدراسات الكلاسيكية عن التوارث اللانووى :

من الحقائق الوراثية المعروفة والمبنية على القواعد المندليـــة أنّ التلقيحات العكسية reciprocal crosses تعطى نتائج متشابهـــة فى الجيل الاوّل والأجيال الانعزالية Segregating generations (الجيل الثانى والأجيال الناتجة من التلقيحات الرجعية) ،من حيـــث سلوك الصفات فى نظام توارثها ،ويستثنى من ذلك سلوك الصفات المرتبطة بالجنس Sex-linked فى الكائنات الحيوانية ،وصفة العقـــم الذاتى (أو التنافر الذاتى Self-incompatibility) فـــى بعض النباتات خلطية التلقيح (Cross-fertilizing) كالبرسيـــم والباذنجان وغيرها ٠

ولقد ظهرت بعض الحالات كانت فيها الانسال الناتجة من التهجينات العكسية مشابهة للأمّ فى مظهرها ،مما أوحى لاوّل وهلة كما لو كانت هـــذه

الصفات تُوَرَّث عن طريق الامُ فقط،وقد سمى هذا النوع من السلوك الوراثــى لبعض الصفات بالتوارث الامُــى Maternal Inheritance.

د ور السيتوبلازم فى التوارث:

فى الكائنات جنسية التكاثر ينشأ الكائن من زيجوت ناتج من اتحــاد بين جاميطة مذكرة (حيوان منوى أو حبة لقاح) وجاميطة موءنثة تسمـــى البييضة . وتبيّن الحقائق العلمية المعروفه عن عملية الاخصاب Ferti- lizatien أنّ الجاميطة المذكرة تساهم عادة ــ من الناحيــة الوراثية ــ بالنواة (الجينوم النووى) د ون أيّ مكونات سيتوبلازمية ،وأنّ مصد ر سيتوبلازم الزيجوت هو الجاميطة الموءنثة (البييضة) . ومن ثم ظهــر أنّ التوارث الامُىّ يعتمد على انتقال مواد وراثية لانووية من سيتوبـــلازم البييضة إلى الفرد الجديد . وهذه المواد لها القدرة على التناسخ الذاتى، وقد ثبت حديثا أنها مقاطع من الد نا موجودة فى سيتوبلازم الخليــة ، لذلك سمى سلوك الصفات التى تقع تحت السيطرة الوراثية لهذه المــواد بالتوارث السيتوبلازمى Cytoplasmic Inheritance . وقد تَتَشكّل هذه المواد الوراثية فى صورة عضيات organelles مختلفة الوظائــف. ففى خلايا البكتريات وكثير من خلايا الكائنات ميزات النوى قد توجد فــى صورة بلازميدات Plasmids ،أو قد تتشكّل فى خلايا ميزات النــوى داخل الميتوكوندريات أو داخل البلاستيدات الموجودة فى الخلايا النباتية. وفيما يلى بعض أمثلة للتوارث السيتوبلازمــى :

(١) توارث صفة الحساسية لثانى أكسيد الكربون فى الدروسوفلا :

توجد فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر سلالة صادقة التوالــد

True breeding تختلف اختلافاً بيّناً عن السلالات العـادية فـي حساسيتها الشديدة لغاز ثانى أكسيد الكربون CO_2 ٠ وعندما أجريت التهجينات العكسية بين هذه السلالة الحساسة وغيرها من السـلالات العادية كانت نتائج هذه التلقيحات مختلفة ٠ فكانت الأمهات الحساسـة تعطى نسلا حساسا ترث فيه الحشرات الاناث الحساسية ثانية خـلال تلقيحات متكررة مع ذكور غير حساسة من غير الاقارب ٠ وبالرغم من ذلك فقـد تُورّث الذكور هذه الصفة لافراد قليلة من نسلها (ذكورا وإناثا). ومن بيـن هذه الافراد بعض الاناث الحساسة التى قد تُورّث بدورها هذه الخاصيـة إلى بعض من نسلهـا ٠

وقد قام بعض من علماء الوراثة باجراء تجارب لاستبدال كروموسومـات السلالة الحساسة بكروموسومات من سلالة عادية مقاومة لثانى أكسيد الكربون، دون السيتوبلازم ،وأمكن بيان أنّ صفة الحساسية هذه تقع تحت السيطـرة الوراثية لمادة موجودة فى السيتوبلازم ٠ وقد وجد أنّ مادة التوارث هـذه تكون مرتبطة مع مادة أخرى تتأثر بالحرارة تسمى مادة سيجما (Sigma) تنتقل عن طريق سيتوبلازم البيضة ٠ وقد أمكن فصل المادة من الحشـرات الحاملة لها واستعمالها لاستحداث الحساسية لثانى أكسيد الكربون فـي البيضات غير الحساسة ،وذلك عن طريق زرع مبايض مأخوذة من اناث عادية داخل إناث حساسة ،وبمجرد دخول مادة سيجما فى هذا الكائن ،فانهـا لاتلبث أن تصبح ضمن محتويات البويضات ،ثم تورث بعد ذلك للنسل ٠

(٢) توارث البـلاستيدات:

قام العالم كورنز Correns عام ١٩٠٨ بدراسة ظاهرة تبرقـش الاوراق فى نبات الميرابلس جالابا *Mirabilis jalaba* وهى تشمـل ظهور مساحات بيضاء (ألبينا Albina) وصفراء Xantha

وتدرّج فى اللون الاخضر Chlorina ، ووجد أن توارث هذه الحالات ينتقل كلية عن طريق نبات الام . وقد نسبت هذه الاختلافات فى الالوان إلى البلاستيدات الموجودة فى السيتوبلازم . وتنشأ البلاستيدات الخضر من عُضَيّات سيتوبلازمية تسمى البلاستيدات الاوّلية وتحتوى د ن أ . وهى قادرة على التناسخ الذاتى مستقلة عن المكونات الاخرى فى الخلية . وتتوزع بالتساوى تقريبا أثناء انقسام الخلية . ويلاحظ أنّ واحدة أو عددا قليلا جدا فقط هو الذى ينتقل عن طريق حبة اللقاح فى معظم النباتات .

وقد قامت الباحثة "روث سيجر Ruth Sager" باجراء دراسة على المقاومة للمضاد الحيوى ستر بتومايسين Streptomycin resist. فى طُحلُب الكلاميدومونا س راينهاردى C.reinhardii لدراسة سلوك الجينات المحمولة ضمن الكروموسوم البلاستيدى فى هذا الطحلب . فقد قامت الباحثة بتنمية الطحلب على بيئة تحتوى على المضاد الحيوى "ستربتومايسين" فماتت معظم الخلايا ولم يتبق سوى حوالى ١ × ١٠$^{-٦}$ منها حيث ظلت حية . وتكاثرت الخلايا التى ظلت على قيد الحياة وكونت كل خلية مستعمرة (كلون) مقاومة لهذا المضاد الحيوى . وقد تم انتخاب هذه الطوافر وتحليلها وراثيا ووجد أن حوالى ٩٠٪ منها حامل للجين النووى str-1 والباقى كان حاملا لجين لانووى سمى بالطفرة str-2 وقد لوحظ أن الغينوتايب لكل من الطافر للجين النووى والطافر للجين اللانووى متماثلان مظهريا ، وثبت أن الجين اللانووى محمول فى البلاستيدات الخضر .

وعندما أدخلت الطوافر المقاومة للاستربتومايسين والمحكومة بجين لانووى فى تلقيحات عكسية ، ثبت أنّ سلوك هذا الجين كان أحادى الابوة .

(٣) طفرة نقص التنفس (الطفرة بيتيت petite) فى الخميرة :

فى خميرة الخباز Saccharomyces cerevisae اكتشفت أول طفرة

تتميز بتكوين مستعمرة صغيرة الحجم سميت "بيتيت petite " وفيها تقل قابلية مستعمرات هذه الطفرة فى الانتفاع بالأكسجين عند تمثيل الكربوهيدرات • ففى وجود سكر الجلوكوز مثلا فى البيئة المغذية ينمو هذا الطراز من الخميرة مكونا مستعمرات صغيرة الحجم • وقد أظهرت التحاليل الكيميائية أن الميتوكوندريات فى هذه السلالة تفقد انزيم التنفس المعروف باسم " انزيم سيتوكروم أوكسيديز Cytochrome oxidase ونقص هذا الانزيم يؤدى الى ضعف النمو وعدم تكوين الجراثيم • وبينت التحليلات الوراثية أن هذه الظاهرة ترجع الى طفرة فى الجهاز الوراثى الميتوكونديرى فى الخميرة •

وقد اكتشفت حالات كثيرة أخرى تثبت دور دنا الميتوكوندريات فى توارث بعض الصفات ومن أمثلتها العقم فى هجين البعوض من جنس كيولكس Culex • وسوف نتناول الجهاز الوراثى الميتوكونديرى بالتفصيل فى جزء لاحق من هذا الباب •

العلاقة بين توارث الجينات النووية واللانووية :

قدمت الدراسات الوراثية التى أجريت على الحيوان الأولى وحيد الخلية والمسمى " برامسيوم أوريليا *Paramecium aurelia* " الدليل القاطع على وجود علاقة بين العناصر الوراثية السيتوبلازمية وتلك الموجودة فى الكروموسومات داخل النواة • وقبل شرح التجارب الخاصة بذلك يجدر بنا أن نعطى فكرة عن تركيب هذا الحيوان ودورة حياته •

تركيب البرامسيوم أوريليا :

البرامسيوم من الكائنات الحيوانية المعروفة باسم البروتوزوا الهدبية celiated protozoa وهو كائن وحيد الخلية من الأوليات • ولقد

أصبح هذا الكائن فى الوقت الحاضر ذا أهمية كبيرة فى الدراسات الوراثيــة ٠
وتحتوى كل خلية على نوعين من النوى (الشكل ٤ــ١) : نواة كبيرة وهــى
التى تتحكم فى نمو وتكوين الكائن وتمايزه ٠ وهذه النواة تحتوى على عــــدد
متضاعف من الكروموسومات وهى أكبر حجما من النوى الصغير لأنها فوقمجموعية
وليس لها علاقة مباشرة بالعمليات التناسلية ٠ وتنشأ النواة الكبيرة من نـــواة
صغيرة عن طريــق ما يسمى بالانقسام الميتوزى الداخلى Endomitosis
وليس العكس حيث لا يمكن أن تنشأ النواة الصغيرة من النواة الكبيـــــرة ٠
كما تحتوى النواة الكبيرة على حوالــى ٨٠٠ ضعف من الدنأ المكـــــون
للهيئة الكروموسومية الأحادية ٠ كما تحتوى كل خلية على نواتين صغيرتيــن ٥
كل نواة ثنائية المجموعة الكروموسومية وهى ذات أهمية فى عملية التكاثـــــر
الجنســــــى ٠

طرق تكاثر البراميسوم أوريليـــــا :

أولا : التكاثر اللاجنسى (الخضرى) : Asexual Reproduction

يتم ذلك عن طريق الانقسام الثنائى المباشر Binary fissien
وهذه هى الطريقة الوحيدة التى يمكن بها للبراميسوم أن يزيد من عدد أفراده ٠
وفى هذا النوع من التكاثر يتم انقسام الفرد إلى فردين متماثلين تماما فـــى
التركيب الوراثى ــ وذلك لانقسام النواتين الصغيرتين ميتوزيا ٥بينما يحــدث
اختناق فى وسط النواة الكبيرة وتنفصل إلى نصفين ٠ وتحت الظروف البيئيــة
المناسبة تتم هذه الدورة خلال حوالى ٥ ساعات ٠ ولاتعرف دورة ميتوزيــة
منتظمة خاصة بالنواة الكـــــبيرة ٠

ثانيا : التكاثر الجنسى : Sexual Reproduction

يعرف نوعان من التكاثر الجنسى :

أ ـ التزاوج الخلطى (المتبادل) : Conjugation

يوجد فى البراسيوم عدة طرز تزاوجية مختلفة متضادة ، ويتم التزاوج كالآتى :

١ ـ يتلاصق فردان من طرازين جنسيين متضادين .

٢ ـ تنقسم ميوزيا كل من النواتين الصغيرتين الموجودتين فى كل من الفردين المتزاوجين ، وينتج عن ذلك تواجد ٨ أنوية أحادية المجموعة الكروموسومية فى كل فرد .

٣ ـ تتلاشى ٧ أنوية أحادية وتبقى نواة واحدة أحادية المجموعة .

٤ ـ تنقسم النواة الآحادية المتبقية ميتوزيا ، وبذلك يحتوى كل فرد على نواتين أحادتين متماثلتين وراثيا .

٥ ـ تبقى إحدى النواتين الأحاديتين فى الفرد الذى تكونت به ، بينما تنتقل النواة الاخرى الى الفرد الآخر خلال قناة سيتوبلازمية بين الفردين المتزاوجين كما يحدث تبادل نووى فى الاتجاه العكسى .

٦ ـ عقب التبادل ـ تندمج كل نواتين أحاديتين فى كل فرد مكونة نواة ثنائية المجموعة الكروموسومية .

٧ ـ ينفصل الفردان المتزاوجان عن بعضهما .

٨ ـ تنقسم النواة الجديدة ثنائية المجموعة الكروموسومية فى كل فرد انقسامين ميتوزيين متتاليين معطية ٤ نويات .

٩ ـ تتمايز اثنتان من النويات الأربعة الناتجة الى نواتين صغيرتين والاثنتان الباقيتان تتمايزان الى نواتين كبيرتين .

١٠ ـ فى خلال هذه العملية السابقة تكون النواة الكبيرة قد تلاشت ، ويتم ذلك خلال حوالى ١٨ ساعة من بدء التزاوج .

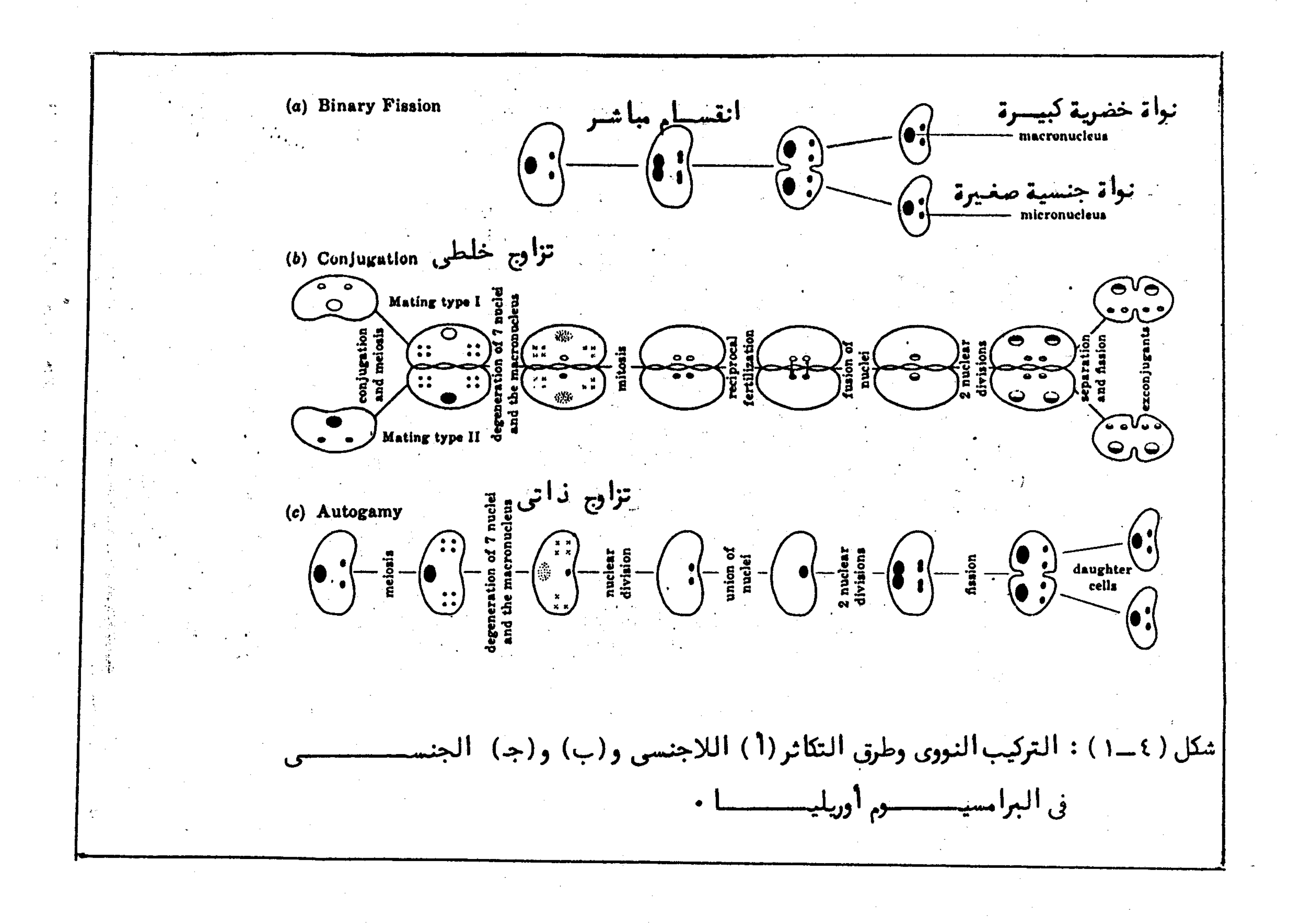
١١ — فى أول انقسام ثنائى مباشر يعقب عملية التزاوج الخلطى تنقسم فى كل فرد ، النواتان الصغيرتان ، بينما لا تنقسم النواتان الكبيرتان وبذلك تحتوى كل من الخلايا الشقيقة الناتجة على نواة كبيرة واحدة وعلى نواتين صغيرتين — أى أنه فى نهاية العملية نحصل على ٤ أفراد كل منها يحتوى نواتين صغيرتين و نواة كبيرة (الشكل ٤ — ١).

النتائج الوراثية للتزاوج الخلطى فى البرامسيوم :

لإدراك النتائج الوراثية للتزاوج الخلطى فى البرامسيوم نفرض أن أحد الغردين المتزاوجين كان بالتركيب الوراثى AA والآخر بالتركيب الوراثى aa ، فإنّ النواة الأحادية المتبقية عقب تلاشى النوايات السبع الأخرى ستكون فى أحد الغردين المتزاوجين بالتركيب A وفى الفرد الآخر بالتركيب a ، وبانقسام كل منهما ميتوزيا نجد أن الفرد الآخر يحتوى على نواتين أحاديتين متماثلتين وراثيا A و A فى أحدهما ، و a و a فى الفرد الآخر . وبعد حدوث التبادل النووى يصبح كل من الغردين Aa خليطا لزوج من الأليلات بعد اندماج النواتين .

مما سبق يلاحظ أنه مهما كان الفردان المتزاوجان مختلفين وراثيا فإنّ الأفراد الناتجة تكون بتركيب وراثى واحد .

أما إذا كان الفردان المتزاوجان خليطين وراثيا (Aa مثلا) فإنّ الفرصة تكون متساوية لكل منهما فى أن تكون النواة الأحادية المتبقية — عقب تلاشى النوايات السبع الأخرى — إما بالتركيب A أو a . وعلى ذلك إذا تمّ التزاوج الخلطى بين فردين خليطين لزوج من الأليلات فان الأفراد الناتجة من هذا التزاوج فى عشيرة ما تكون بالتراكيب التالية ونسبها المحتملة : 25 % AA : 50 % Aa : 25 % aa .



شكل (٤ــ١) : التركيب النووى وطرق التكاثر (أ) اللاجنسى و (ب) و (جـ) الجنسى في البراميسيوم أوريليا .

بـ التزاوج الذاتى فى البراميسيوم : Autogamy

يحدث من آن لآخر أن يدخل فرد من البراميسيوم فى عملية ذاتيـــة تعرف بالتزاوج الذاتى Autogamy ، لايشترك فيها إلاّ أب واحـــد وتسمى هذه العملية تزاوج أحادى الأبوة Uni-parental .

وينتج عن التزاوج الذاتى تنظيم وراثى من نوع جديد . والسلـــوك النووى فى هذا التزاوج يشبه إلى حدٍ كبير السلوك النووى فى التزاوج الخلطى ويمكن تلخيصه فيما يلـــى :

١ـ تدخل كل من النواتين الصغيرتين فى الفرد الواحد فى عملية أنقســام ميوزى ويتكون ٨ نوايات أحادية المجموعة الكروموسوميـــة .

٢ـ يتلاشى ٧ من النوى الأحادى وتبقى واحدة فقـــط .

٣ـ يحدث انقسام ميتوزى للنواة الأحادية المتبقية وتتكون نواتان أحاديتان متماثلتان وراثيـــا .

٤ـ تندمج النواتان الأحاديتان معا مكونة نواة ثنائية أصيلة التركيـــب الوراثـــى (الشكل ٤ ـ ١) .

النتائج الوراثية للتزاوج الذاتى فى البراميسيوم :

اذا كان الفرد الذى دخل فى عملية التزاوج الذاتى خليطا فى التركيب الوراثى Aa مثلا ، فانه يصبح بعد هذه العلمية أصيلا فى خلال جيـــل واحد فقط . والفرصة متساوية لكى يكون الفرد الناتج AA أو aa .

فاذا فرض وجود عشيرة بالتركيب Aa فانه عقب التزاوج الذاتى نجد أن العشيرة تصبح بالتراكيـــب : 50% aa : 50% AA .

ويعتبر التزاوج الذاتى أشد أنواع تربية الاقارب ، حيث تتحول الافراد الخليطة الى أفراد أصيلة خلال جيل واحد فقـــط .

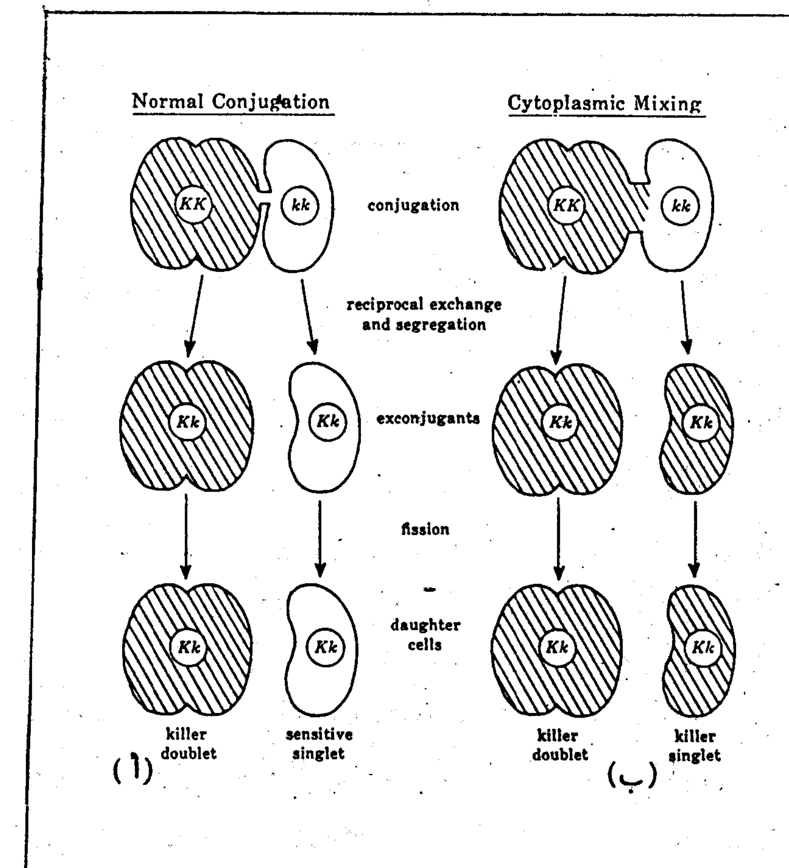
علاقة الجهاز الوراثى النووى بتوارث الجسيمات السيتوبلازمية :

توارث البلازميد كابا فى البراميسيوم :

وجدت بعض العوامل السيتوبلازمية التى لها القدرة على التناسخ الذاتى وأيضا الانتقال عبر الأجيال مستقلة عن النواة ، وقد ظهرت حالات تبين فيها أن للجينات النووية علاقة بالتغيرات التى تنشأ فى هذه المواد السيتوبلازمية • ومن أحسن الأمثلة على ذلك ، توارث البلاستيدات فى النبات ، وتوارث جسيمات كابا Kappa particles فى البراميسيوم أوريليا *Paramecium aurelia* •

وجد سونيبورن Sonneborn عام ١٩٤٣ سلالة من البراميسيوم تسمى بالقاتلة Killer ، وهذه تحتوى فى سيتوبلازمها على أجسام تسمى جسيمات كابا ، لها القدرة على التكاثر الذاتى ، وهذه الجسيمات تفرز فى المياه التى يعيش فيها هذا الحيوان الأولى مادة البراميسين Paramecin السامة والتى تتسبب فى قتل الأفراد من سلالة أخرى — خالية من جسيمات كابا — وتسمى بالسلالة الحساسة Sensitive • وبالرغم من ذلك يمكن أن يتم التزاوج Conjugation بنجاح ما بين السلالة القاتلة والسلالة الحساسة .

وعندما أجرى تزاوج بين أفراد قاتلة تركيبها الوراثى KK وأفراد حساسة تركيبها الوراثى kk ، كانت جميع الأفراد الناتجة بالتركيب Kk — إلا أن صفة الفردين الناتجين عقب التزاوج (قاتل أو حساس) تتوقف على كون فترة التزاوج قصيرة بحيث لا تسمح بتبادل سيتوبلازمى بينهما أو طويلة بحيث تسمح بتبادل فى السيتوبلازم وانتقال لبعض جسيمات كابا به (أنظر الشكل ٤ — ٢) •



شكل (٤ـ٢): توارث جسيمات كابا فى البراميسيوم .

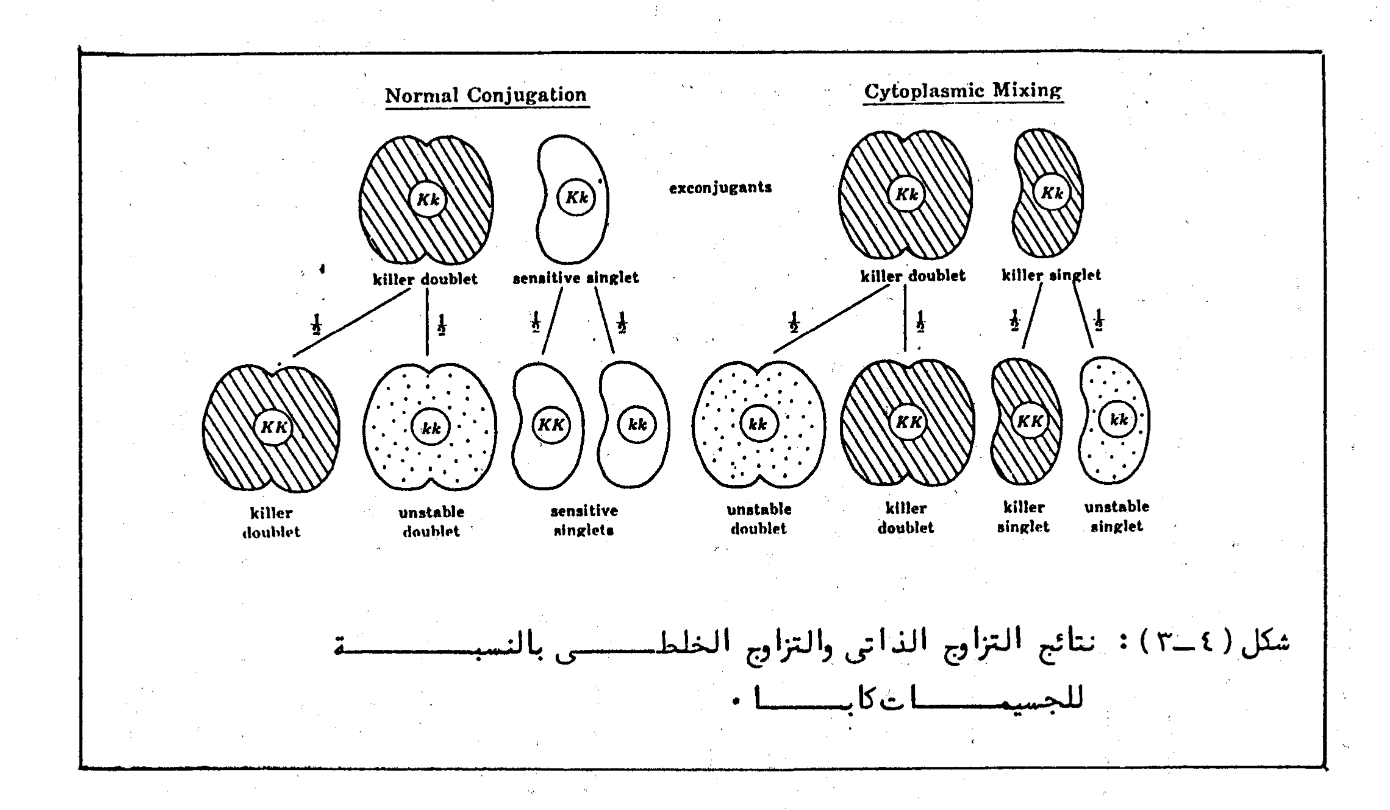
(أ) فترة التزاوج قصيرة لاتسمح بتبادل سيتوبلازمى .

(ب) فترة التزاوج طويلة تسمح بتبادل سيتوبلازمى .

أولا : لو كانت فترة التزاوج الاقترانى قصيرة يبقى الفرد القرين الحساس بعد انفصاله حساسا ،بالرغم من أن تركيبه الوراثى قد أصبح Kk ،وذلك لأن هذا الفرد يخلو سيتوبلازمه من جسيمات كابا ،كما أن الجين K لا يمكنه تخليق هذه الجسيمات من جديد فى حالة عدم تواجدها ،بينما يبقى الفرد القرين القاتل كما هو قاتلا ، وذلك لوجود جسيمات كابا فى سيتوبلازمه وكذلك لوجود الجين النووى K المسيطر على التكاثر الذاتى لهذه الجسيمات .

ثانيا : لو كانت فترة التزاوج الاقترانى طويلة بحيث تسمح بتبادل سيتوبلازمى وانتقال جسيمات كابا من القرين القاتل إلى القرين الحساس، فبعد الانفصال يكون كلا الفردين بالتركيب الوراثى Kk ،ويكون كلاهما قاتلا ،وذلك لوجود جسيمات كابا فى سيتوبلازم كل منهما وكذلك لوجود الجين النووى المسيطر على تكاثر هذه الجسيمات فى التركيب الوراثى لكل منهما (أنظر الشكل ٤ — ٢) .

واذا تركت الافراد الناتجة من الحالة الثانية للتزاوج الذاتى (الشكل ٤ — ٣) وهى الخليطة فى تركيبها الوراثى Kk والحاوية فى سيتوبلازمها على جسيمات كابا ،فانها تعطى — عقب جيل واحد — أفراد أصيلة من تركيبين وراثين KK و kk وبنسب متساوية . والافراد KK تكون قاتلة وتستمر كذلك فى الاجيال التالية . أما الافراد kk فانها تكون فى البداية قاتلة بالرغم من تركيبها الوراثى وذلك لاحتواء سيتوبلازمها على جسيمات كابا — إلا أنها تتحول تدريجيا إلى أفراد حساسة بعد عدة أجيال ،حيث أن جسيمات كابا الموجودة فى السيتوبلازم لا يمكنها التكاثر الذاتى فى غياب الجين النووى K ، وعلى ذلك نجد أن عدد جسيمات كابا



شكل (٤ـ٣) : نتائج التزاوج الذاتى والتزاوج الخلطى بالنسبة للجسيمات كابا .

يتناقص بمقدار النصف تقريبا عقب كل عملية انقسام ثنائى ، ويستمر هـــذا التناقص حتى تتلاشى جسيمات كابا نهائيا . ولقد بينت هذه الدراســـة الحقائق التالية :

١ — جسيمات كابا لا يمكنها التكاثر إلا فى وجود الجين النووى K ، لكـــن يمكنها أن تتواجد دون تكاثر فى الافراد الخالية من هذا الجيـــن .

٢ — الجين النووى K لا يمكنه تخليق جسيمات كابا جديدة فى أفراد خالية من هـــذه الجسيمـــات .

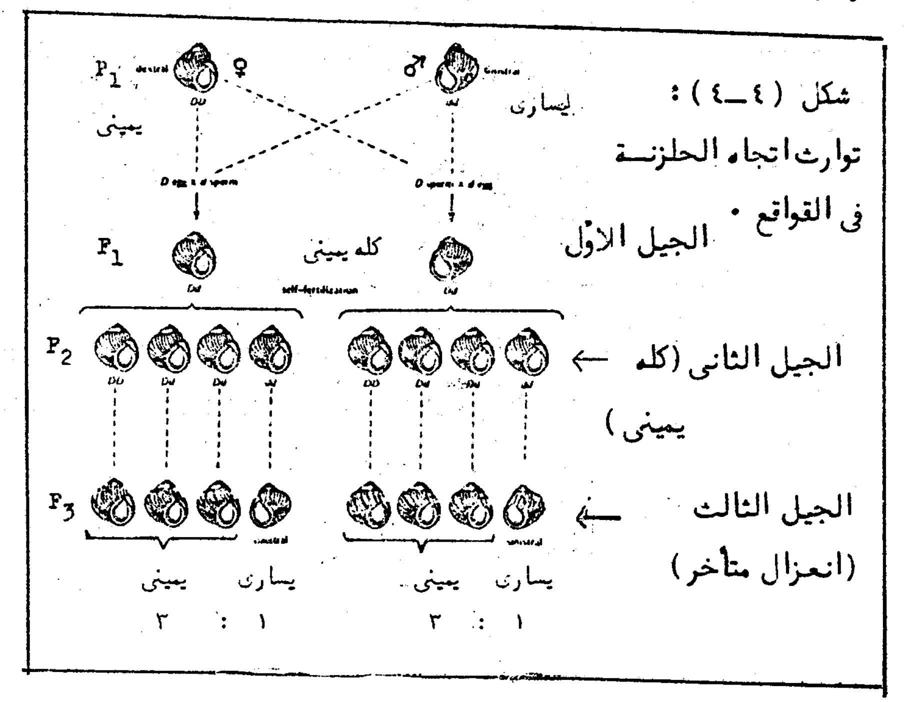
تأثير الام Maternal Effect :

توجد حالات يستمر فيها تأثير الام خلال حياة الفرد ولا يتضاءل كما فى حشرة خنفساء الدقيق خلال العمليات التكوينية . ومن أمثلة ذلك صفة اتجاه الحلزنة فى صدفة قواقع الليمنيا Limnaea الذى يتوقف على زوج واحـــد من الجينات ، فالحلزنة اليمينية Dextral يحكمها الاليل السائد D ، والحلزنة اليسارية Sinistral تخضع للاليل المتنحى d . ولكـــن وُجد أنّ اتجاه الحلزنة فى النسل يتحدد حسب التركيب الوراثى لـــلام ، إذ أنّ التلقيح الذاتى لافراد يمينية خليطة (Dd) أنتج نسلا كلـــه يمينى الحلزنة على الرغم من أن بعضه تركيبه الوراثى dd. وبالمثل أعطـــى التلقيح الذاتى لافراد يسارية خليطة (نسل خليط من أم dd) نســـلا يمينى الحلزنة بالرغم من أن بعضه أيضا تركيبه dd ، ولكن تأثير الام هـــذا ينتهى بعد جيل واحد ، إذ أن الافراد اليسارية فى الجيل التالى ستنتج من الامهات الاصيلة dd ، بالرغم من أنها نفسها يمينية الحلزنـــة ، ويوضح الشكل (٤ — ٤) هذه النتائج وتعرف هذه الحالة الـــتى

لا يعتمد فيها مظهر الفرد على تركيبه الوراثى ،بل على التركيب الوراثـــى للامْ التى نشأ منها ــ بظاهرة سبق التعيين Pre-determination.

ولما كان الانعزال فى المثال السابق يتم فى الجيل الثالث ،فتسمى هــذه الحالة "الانعزال المتأخر Delayed segregation ".

ولمعرفة تأثير الجينات النووية على سلوك المكونات السيتوبلازمية قــام العلماء باجراء فحص سيتولوجى أثناء نمو الزيجوت الخاص بالافراد يمينيــة الحلزنة والافراد يسارية الحلزنة ،ووجدوا أن اتجاه المغزل أثنــــاء الانقسام الميتوزى الثانى Second division هو الذى يحــدد الحلزنة . فاذا كان اتجاه المغزل مائلا ناحية الشمال نتجت الحلزنــــة اليسارية . واذا كان مائلا ناحية اليمين نتجت الحلزنة اليمينية . وقد وجــد أن اتجاه الحلزنة يقع تحت سيطرة التركيب الوراثى النووى للامْ ،وليس حسب التركيب الجيــــنى للزيجــــوت ذاتــــه .



شكل (٤ـ٤) : توارث اتجاه الحلزنــة فى القواقع .

الجيل الاوْل

الجيل الثانى (كله يمينى) ←

الجيل الثالث ← (انعزال متأخر)

البلازميـــــــدات Plasmids

مقدمـــــة :

تُعَرَّف البلازميدات بأنها عناصر وراثية ذاتية التناسخ (autono-mously replicating) ،مستقلة عن كروموسوم (أو كروموسومـــات) الخلية المضيفة وهى تتكون من جزيئات د ن أ مزدوجة الخيط (dsDNA) ذات تنظيم دائرى على شكل دوائر مغلقة تساهميا ،وهى غالبا ما توجد فـى سيتوبلازم جميع الخلايا البكتيرية ،كما تم اكتشافها حديثا فى سيتوبـــلازم خلايا العديد من الكائنات ميزات النوى كالدروسوفلا والذرة والخميـــرة وبعض الفطريات ـ وكذلك فى خلايا الانسان • ومن الناحية الوراثية قد يكـون البلازميد مكملا للطاقم الجينى (الجينوم genome) للخلية • وبصـورة أكثرشمولا قد يكون البلازميد خارج النطاق الجينى الرئيسى وهذا يسمـــى "اكسوبلازميد Exoplasmid" ،أو قد يكون مشتقا من الجينـــوم العادى للخلية على شكل تتابع من الدنأ مزدوج الخيط فى حالة عديـدة النسخ multicopy بواسطة التناسخ الذاتى وهذا يسمـــــى "اندوبلازميد Endoplasmid" •

لمحة تاريخية عن اكتشاف البلازميـــــدات:

ان التقدم السريع فى مجال الوراثة الميكروبية ،فى بداية حقبـــــة الخمسينات من هذا القرن ،قد صاحبه اكتشاف العديد من العناصـــر الوراثية التى تقع خارج نطاق الكروموسوم البكتيرى • ومن هذه العناصـــر الوراثية التى تم اكتشافها بالذات فى بكتريات إ•كولاى ـ بعض الجينـــات اللاكروموسوميـــة مثـــل :

أ ـ عوامل الخصوبة (F^+) المسئولة عن التزاوج الاقترانى (congugation) فى البكتريـــات•

ب — جينات بلازمية مسئولة عن تخليق السموم البكتيرية (والمعروفة باسم التوكسينات Toxins) من نوع الكوليسين Colicin .

جـ — جينات بلازمية مسئولة عن مقاومة البكتريات للمضادات الحيوية .

و بمرور الوقت أصبح من المؤكد أن هذه العناصر الوراثية — والتى أطلق عليها العالم "ليدربيرج (Lederberg) عام — ١٩٥٠ اسم البلازميدات Plasmids — موجودة فى جميع الخلايا البكتيرية ، وأنها تتكون من حلقات دائرية مزدوجة خيط الدنأ ، كما أنها تكون قادرة على التناسخ بطريقتين بديلتين :

١ — طريقة ذاتية فى سيتوبلازم الخلية البكتيرية مستقلة عن الجينوم البكتيرى الرئيسى .

٢ — طريقة غير ذاتية — أى كجزء مندمج مع الكروموسوم البكتيرى ، وهذا النوع من البلازميد كان يسمى قبل ذلك بالإبيسوم (Episome).

ولقد وجد أن أطوال البلازميدات البكتيرية تتراوح ما بين ٢٫٢٥ كيلو/ زوج قواعد (Kbp) إلى حوالى ٥٠٠ كيلو/ زوج قواعد . وبالرغم من أن أدلة التوارث السيتوبلازمى كانت تشير إلى وجود عناصر وراثية سيتوبلازمية — مثل جينات العقم الذكرى السيتوبلازمى فى نبات الذرة — الا أن أول بلازميد اكتشف فى سيتوبلازم خلايا كائن مميز النوى كان البلازميد 2μm فى الخميرة *S. cerevisiae* ، بواسطة العالم سنكلير ومعاونوه عام ١٩٦٧ ، بواسطة المجهر الالكترونى ، وكان ذلك هو التكنيك الأساسى المستخدم للكشف سيتولوجيا عن الأساس المادى للصفات التى تتوارث لا كروموسوميا . ولقد استمر هذا البلازميد حقبة من الزمن كظاهرة تنفرد بها الخميرة دون غيرها من الكائنات مميزات النوى . ومنذ بداية حقبة السبعينات كثّف علماء الوراثة جهودهم للكشف عن

البلازميدات فى الكائنات ميزات النوى الأُخَر ،ولقد أثمرت هذه الجهود فى كشف العديد منها فى مختلف أنواع النباتات والحيوانات وبضمنها الانسان (للتفاصيل ينصح بالرجوع الى كتاب Plasmids of Eukaryotes — تأليف إيشر ومعانوه (Esser et al., 1986 .

أشكال البلازميدات:

بينما من الناحية التركيبية تكون معظم البلازميدات المعروفة مكونة من دوائر مغلقة تساهميا من جزيئات دائرية من الدنأ مزدوج الخيط (cccdsDNA) ،إلا أنه قد أمكن تمييز بعض البلازميدات مكونة من جزيئات طولية linear من الـ دنأ مزدوج الخيط ، وكذلك بلازميدات من بعض الطرز ذاتية التناسخ من جزيئات الرنأ مفرد الخيط (ssRNA) مثل فيروسات بعض النباتات الراقية ،وبلازميدات مكونة من جزيئات رنأ مزدوجة الخيط (dsRNA) داخلية النمو endogenous فى خلايا بعض الفطريات والحيوانات الأولية (البروتوزوا) مثل البلازميد القاتل فى البراميسيوم المسيطر على جسيمات كابا (Kappa particles) .

الخصائص العامة للبلازميدات البكتيرية :

تتميز البلازميدات التى اكتشفت فى جميع أنواع الخلايا البكتيرية بمجموعة من الخصائص العامة قد يكون بعضها مماثلا لخصائص بلازميدات الكائنات ميزات النوى ،وفيما يلى عرض لهذه الخصائص:

(١) توجد مستقلة داخل سيتوبلازم الخلية البكتيرية بعيدا عن الكروموسوم البكتيرى الوحيد ،وقد تكون فى صورة نسخة واحدة أو

عديد من النسخ طبقا لنوع البلازميـــــد .

(٢) تتناسخ تناسخا ذاتيا منفصلا تماما وفي وقت قد يكون غير متزامن عن الكروموسوم الرئيسي الوحيد بالخليــــة .

(٣) يمكن لبعض (وليس كل) البلازميدات البكتيرية أن تُولجَ في أو تنفصل من الكروموسوم الرئيسي ، وفي هذه الحالة يطلق على مثل هـــذه البلازميدات اسم "الابيسومات Episomes" (ليدربيرج ١٩٥٠) .
وفي هذه الحالة تصبح جزءاً من هذا الكروموسوم وتسلك سلوكه ، كما تكون قادرة على الانفصال عنه مرة أخـــرى .

(٤) جميع البلازميدات البكتيرية المعروفة حتى الآن ، توجد داخل الخلية كحلقات دائرية مغلقة من حلزون الدنا الخالي من أى نوع مـــن البروتينات (الهستونات) .

(٥) سهولة انتقالها من وإلى الخلية داخل النوع البكتيرى الواحد وبيـــن الأنواع البكتيرية المختلفة بحرية شبه تامة (أنظر البلازميدات والصحة العامة — في جزء لاحـــق) .

(٦) قد يتضمن البلازميد الواحد من ٤-٣٥ ملليميكرون من الدنا مـــزدوج الخيط الخالي من الهستونات — وقد يشمل مابين ٢٫٢٥ حتى ٥٠٠ كيلو/ زوج قواعـــد .

(٧) تتميز بسهولة عزلها معمليا من الخلايا البكتيرية المضيفة لها وتحديـد تركيبها الوراثي وتعيين تتابعاتها النوتيدية بدقة ، ثم إعادة إدخالها مرة أخرى إلى داخل الخليـــة .

(٨) يمكن فصم تنظيمها الدائرى بواسطة إنزيمات القطع المتخصصة وإعـــادة وصلها بعد إضافة مقاطع مـــن دنا غريب لتشييد بلازميد مطعـــم وراثيا Recombinant Plasmid .

الخصائص العامة لبلازميدات الكائنات مميزات النـــوى :

تتميز البلازميدات التى اكتشفت فى الكائنات مميزات النوى بالخصائـــص العامـــــة التاليـــــــة :

(١) قد توجد مستقلة فى سيتوبلازم الخلية ،أو قد تكون مستترة(cryptic) داخل الغشاء النووى مثل البلازميد 2μm ،أى أنه متردد ما بيـــن السيتوبلازم والنـــــواة .

(٢) قد تتواجد فى صورة نُسْخَة وحيدة فقط أو فى عديد من النسخ الـــتى يصل عددها ما بين ٥٠—٧٠ نسخة (كما فى الخميرة) ،وقد توجـــد سلالات خاليـــة منهـــا تمامـــا .

(٣) الكثير منها غير محدد الوظيفة حـــتى الآن .

(٤) يتكون بعضها من حلقات مغلقة تساهميا من الدنا (cccDNA) مزدوج الخيط — مثل البلازميدات البكتيرية — كما فى الخميرة و النيوروسبورا ومعظم البلازميدات الحيوانية ومنها الانسان والفـــأر والقرد) ،وبعضها قد يأخذ الشكل الطولـــى linear مثـــــل كثير من بلازميدات الفطريات والنباتات وغيرها من الكائنات الأخـــر كما أن بعضها قد يتكون من الرنا مزدوج الخيط dsRNA كالبلازميد القاتل فى البرامســـــيوم .

(٥) بعضها من أصل نووى ،والكثير منها من أصل ميتوكوندريرى والبعـــض الآخر غير معروف المصدر حـــــتى الآن .

(٦) تتراوح أطوالها ما بين ٩و٠ كيلو/ زوج قواعد وقد يصل لأكثر من ٢٠٠ كيلو/ زوج قواعد للبلازميد الواحد ،كما فى البلازميد Ti-plasmid (بلازميد التورم التاجى فى النباتـــــات) .

(٧) بعضها قد يقع ضمن العناصر المتنقلة Transposons ،كما هـــو

الحال فى الذرة والدروسوفلا ،ومن ثَمّ فبعضها متغيّر الشكل ما بين دائرى أو طولى ،حسب مراحل النمو والتشكل المختلفة للانسجة .

كيفية اكتشاف وجود البلازميدات البكتيرية :

قد تحتوى خلايا بعض العشائر البكتيرية على بلازميدات من نوع واحد أو من أنواع مختلفة ،فكيف يمكن لنا أن نحدد وراثيا وجود بلازميد فى تلك العشائر البكتيرية ؟ يمكن تلخيص الاجابة على مثل هذا التساؤل فى النقاط التالية :

(١) إذا كان للبلازميد خصائص معدية infective فإنّ وجوده يتحدد مباشرة بواسطة الانتقال السريع لصفة أو صفات معينة من خلية حاملة له إلى خلية كانت خالية منه ،مثل انتقال صفات المقاومة للمضادات الحيوية بين الأنواع البكتيرية المختلفة دون إمكانية حدوث تزاوج conjugation بينها (أنظر علاقة البلازميدات بالصحة العامة فى جزء لاحق) .

(٢) يلاحظ أن جينات الصفات المحملة شفريا (coded) فى دنا البلازميد لا تظهر ارتباطا وراثيا — فى تجارب الاستنقال Trans-duction أو غيرها من تجارب توقيع الخرائط الوراثية مع أيّ جينات أُخَر مُشَفّرة فى الكروموسوم البكتيرى الرئيسى .

(٣) الفقد السريع للبلازميد ،ففى مستنبت من خلايا بكتيرية حاملة لبلازميد ما ،كثيرا ما تظهر بعض الخلايا المنعزلة الفاقدة لبلازميداتها ،وقد يكون فقد البلازميد تلقائيا spontaneously أو مستحدثا induced.

ويحدث الفقد التلقائى للبلازميد نتيجة لفشل نسخة البلازميد

الوحيدة فى الخلية فى الانتقال إلى خلية إبنية . أما الفقد المستحدث فينتج بالمعاملات المطفرة ، مثل التعريض لصبغات الاكريدين (Acridines) أو التجويع stravation للثيميدين ،أو المعاملة بالاشعة السينية (أشعة X) ،وقد وجد أن أشعة X توقف اختياريا تناسخ بلازميدات معينة ،دون أن تؤثر على الكروموسوم البكتيرى الرئيسى .وهذه حقيقة توضح ظاهرة التناسخ المستقل للبلازميد عن الجينوم الرئيسى للخلية . وفى كلتا الحالتين سوف تكون الأفراد المنعزلة قابلة للحياة ،إلاّ أنها تفتقد للصفات المحكومة بجينات البلازميد . وللحكم على أنّ فقد صفات الخلية هو نتيجة لفقد البلازميد وليس نتيجة لحدث طفرى ،يلاحظ الآتى :

أ ــ تكرار الخلايا المنعزلة المفتقرة للصفات المشفرة فى البلازميد أعلى بكثير جدا من معدلات الطفور المعروفة .

ب ــ فقد عدد كبير من الصفات فى حدث واحد منفرد ،وهذا نادرا ما يحدث فى حالات الطفور التلقائى .

أما فى الكائنات مميزات النوى ،فيستدل على وجود البلازميدات فيها من أدلة التوارث اللانووى والتى سبق ذكرها ،وتُعَضَّد هذه الادلة بالمجهر الالكترونى .

تصنيف البلازميدات البكتيرية :

يختلف تصنيف البلازميدات البكتيرية تبعا لوظيفة كل منها وتوجد عدة طرق تصنف بها هذه البلازميدات.

أولا : تصنيف مبنى على نوعية المعلومات الوراثية المشفرة فى البلازميد ويقع تحت هذا التصنيف البلازميدات التالية :

(١) بلازميدات مقاومة العقاقير الطبية : وهى بلازميدات حاملة لجينـــات مقاومة المضادات الحيوية Antibiotic Resist ،وتسمى بلازميدات R وهذه لها علاقة مباشرة بانتشار الكثير من الأمراض الوبائية (أنظـــر علاقة البلازميدات R بالصحة العامة فى جزء لاحـــق) .

(٢) بلازميدات الكوليسينات Colicins : وهى بلازميدات تحمل جينات تسيطر على تخليق بروتينات معينة تعرف بالكوليسينات ،وتسمـــى ببلازميدات كول Col-plasmids ،وهذه تمثل بروتينات خاصـــة بالمناعة ضد الأمراض الفيروسية الوبائيـــة .

ثانيا : تصنيف مبنى على قابلية البلازميد للانتقال ،وهذه تشمل :

(١) بلازميدات مختصة بالتزاوج البكتيرى Conjugal : وهى قابلـــة للانتقال Transmissble ،ومن أمثلتها البلازميد F (أو العنصر F-factor, F) ،حيث تسيطر بعض الجينات المشفرة فيه علـــى تكوين قنوات التزاوج الخارجية والانتقال التزاوجى لـ دن أ العنصـــر (البلازميد) F من خلايا F^+ إلى خلايـــا F^- .

(٢) بلازميدات غير مختصة بالتزاوج Non-conjugal : وتســـمى بالبلازميدات غير القابلة للانتقال Non-transmissble ،وهى تفتقر إلى جينات "التزاوج" الفعالة ،ولذلك فهى تنتقل من خلايـــا أبوية إلى خلايا إبنية بطريقة "لاجنسية" . وبالرغم من ذلك فقـــد تنتقل هذه البلازميدات أو تُحَرَّك مع البلازميدات المختصة بالتزاوج لو تواجد كلا البلازميدين فى نفس الخليـــة المضيفـــة .

وصف لبعض البلازميدات البكتيرية :

بالرغم من وجود العديد من البلازميدات فى جميع أنواع الخلايا البكتيرية المعروفة وبالرغم من تنوّع وظائفها وخصائصها ، إلا أننا سوف نعرض لأهم هذه البلازميدات بشئ من التفصيل حتى نعطى فكرة عن هذه العناصر الوراثية والتى أصبحت فى الوقت الحاضر محل تركيز شديد من علماء الهندسة الوراثية والبيولوجيا الجزيئية ، كما أنها تمثل أحد المجالات التجارية الهامة فى تقنيات الدنا المطعم Recombinant DNA Technology.

أولا : البلازميد F (بلازميد التزاوج فى إ ٠كولاى) :

فى بداية اكتشافه كان يسمى العنصر F أو عامل الجنس F ٠ وقد اكتشف فى خلايا بكتريات المعى إ ٠كولاى (E. coli) ٠ وتتسم خلايا هذه البكتريات الحاملة لهذا البلازميد بعدد من الصفات المظهرية التالية:

(١) تحتوى على قنوات تزاوج pili (ومفردها pilus) تمكنها من نقل دنا بلازميداتها لخلايا F مستقبلة (شكل ٤ ـ ٨) ٠

(٢) تكون حساسة للعدوى بالفاجات مفردة خيط الرنا ssRNA ولفاجات مفردة خيط الدنا ssDNA معينة (وهذه تسمى فاجات مختصة بالذكر Male -specific phages ، حيث أن الخلايا F^+ تسمى مجازا "ذكر إ ٠كولاى") ٠

(٣) تتميز بقدرتها على مقاومة نمو وتكاثر الفاجات المختصة بالانثى Female specific phages ، (حيث أن خلايا F^- تسمى مجازا "أنثى إ ٠كولاى") ، ومن أمثلتها الفاجات T_3 و T_7.

(٤) تتميز هذه الخلايا بقدرتها على استبعاد اكتساب أية عناصر F

إضافية ،وذلك بوسيلتيـــــن :

أ ـ الاستبعاد السطحى لشفط عنصر F إضافى .

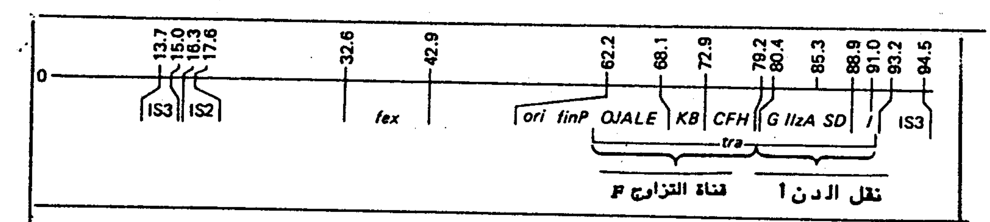
ب ـ بواسطة مناعة ميكانيكية ذاتية تمنع استبقاء أية عناصر F إضافية قـد تنجح فى الدخول إلى الخليـــة .

(٥) لها قدرة على الارتداد الى خلايا Hfr (وهذه سلالات يمكنهـا تكوين توليفات وراثية جديدة بتكرار عالى (High frequency recombinations) ،وذلك عندما يولج (inserted) البلازميد F فى الكروموسوم البكتيرى الرئيسى ويصبح قادرا على التعبير عن خصائصه الإبيســوبية .

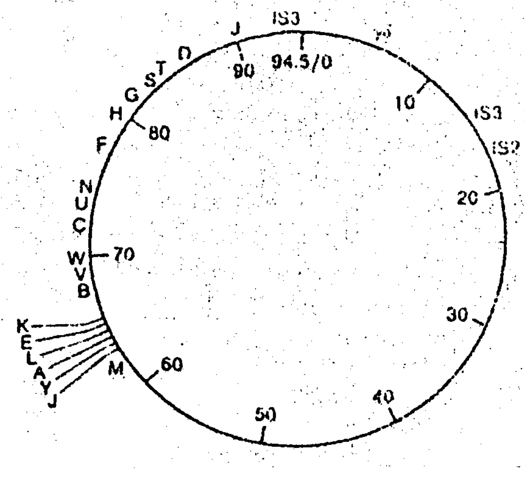
ولما كان البلازميد F يتحكم فى حشد ثرى من الصفات فى بكتيـا إ.كولاى ،فقد أمكن عزل طوائر تحمل العنصر F, F^+ ، وبعضها يحمل طفرات تُضْفى المقاومة للفاج المختص بالذكر والبعض الآخر يحمل طفـرات sfx– (غير قادرة على الاستبعاد السطحى لعناصـر F إضافية) . ولقد مَكّنت هذه الطفرات المعزولة من توقيع خرائط وراثيـة تفصيلية للبلازميـد F .

الخريطة الوراثية للبلازميـد F :

البلازميد F هو جزىء د ن أ دائرى يقدر وزنه الجزيئى بحوالـى $٦٢,٥ \times ١٠^٦$ دالتون (= ~ ٩٤,٥ كيلو/ زوج قواعد Kilobase pair – (Kbp) أى ٩٤٥٠٠ زوج قواعد bp) . ولقد أمكـن رسم خريطته وراثيا وفيزيائيا باستفاضة شبه كاملة . ويرجع الفضل لكل مـن العلماء أَخْتمان و وِيلْتِس و كلارك فى كونهم أول من بدأ تشييد الخريطـة الوراثية للعنصر F ،وتبعهم آخرون لاستكمالها (الشكل ٤–٥ والشكل ٤–٦)



شكل (٤ ـ٥) : خريطة البلازميد F فى بكتريا إ·كولاى (تنظيم طولى) الطول الكلى للدنا المزدوج ٩٤٠٠٠ زوج نوتيدى (٩٤٫٥ ك/ kbp) · الاعداد الموضحة فى الرسم بالكيلو زوج قواعد مقدرة بواسطة مقاطع بـ EcoRI، ori = موقع بداية الانتقال IS's = مواقع الايلاج (للتفاصيل أنظر الموضوع) ·



شكل (٤ ـ٦) : التنظيم الدائرى لخريطة البلازميد F، الحروف تشير الى مواقع الجينات tra، الخطوط البارزة للداخل تمثل المسافات النسبية بالكيلو ـ زوج قواعد، مواقع الايلاج γδ , IS2 , IS3 مبينة ناحية اليمين ·

وتمثل التتابعات IS2 و IS3 و γδ المبينة فى الشكل أهمية خاصة ، وهى تمثل مناطق الجينات المتحركة(التتابعات المولجة) Trasposons IS_s والتى لها علاقة بالتعبير المظهرى الابيسومى للبلازميد F .

ويحتوى الربع العلوى من خريطة البلازميد F على الجينات tra (جينات نقل الدن أ) ،حيث تتجمع مع بعضها فى عدة أوبرونات (operons) وهى جينات متحكمة فى الجينات الأساسية فى البلازميد (أنظر باب ضبط إيقاع وتنظيم عمل الجين) • وتختص بعض الجينات tra بتخليق قناة التزاوج (pilus) ،بينما تختص الجينات الأخر بعمليات نقل الدن أ وعملية الاستبعاد السطحى لجينات fex الاضافية المختصة بالذكر (وهى جينات tra S , ilz A) وكذلك لها علاقة بالمناعة لخلايا F^+ • وتوجد فى هذا البلازميد أيضا جينات أخر لها علاقة بظاهرة عدم التوافق الذاتى incompatibility (inc-genes) وجينات تختص بالتناسخ الذاتى لدن أ البلازميد ،مثل الجينات (ori V , rep) • ويبلغ طول الأوبرون tra المتحكم فى هذه الجينات حوالى ٣٠٠٠٠ زوج من القواعد ،وهو أكبر الأوبرونات البكتيرية التى وصفت حتى الآن • وهناك العديد من مناطق هذا البلازميد التى لم توقع خريطيا حى الآن •

الخاصية الايلاجية للبلازميد F : Insertion Property

من الخصائص الهامة للبلازميد F هى قدرته على إيلاج insertion نفسه فى الكروموسوم البكتيرى لكى يتولد من هذه العملية خلية Hfr وهى خلية قادرة وراثيا على تكوين توليفات

وراثية جديدة بتكرارات عالية . وعملية الايلاج هذه عملية عكسية mutual (reciprocal) (أى يمكن للبلازميد F أن ينفصل مرة أخرى من الكروموسوم الرئيسى) ، وهى تشبه إلى حد كبير تلك التى تحدث عندما يقوم الفاج لامبدا (λ) بلسجنة lysogenation لخلية بكتيرية . وتختلف عملية إيلاج البلازميد F فى كروموسوم إ .كولاى عن عملية اللسجنة (تكوين سلف الفاج prophage لامبدا λ) ، فى أن لهـا الخصائص التاليـة :

(١) موقع التبادل exchange site فى F ليس فريدا unique من نوعه ، فبينما يحدث التبادل المادى كلية فى المقطع IS3 الموجود قرب المنطقة 94.5 على الخريطة المادية ، فانه يحدث أيضا فى المقطع IS3 والمقطع γδ الاخران كما هو مبين فى الشكل (٤ ـ ٦) .

(٢) توجد مواقع أخرى عديدة فى الكروموسوم الثانوى (البلازميد) يمكن أن يحدث عندها الايلاج ويعرف منها الآن أكثر من ٢٠ موقعا . وقدرة البلازميد F على تكوين سلالات Hfr تختلف باختلاف المواقع الايلاجية على هذا البلازميد . ويُعْتَقَد أن كل موقع من هذه المواقع عبارة من نسخة من العناصر IS2, IS3, γδ فى الكروموسوم، وهذه القدرة تمثل درجة احتمال التبادل مع هذه العناصر .

(٣) يمكن للبلازميد F أن يندمج فى الكروموسوم البكتيرى فى كلا الاتجاهين اتجاه عقارب الساعة واتجاه عكس عقارب الساعة. ولما كان انتقال F إلى خلية أنثى (female cell) من مصدر فردى واحد وفى اتجاه واحد ، فهناك سلالات Hfr يمكنها نقل الكروموسوم الثانوى فى كلا الاتجاهين . وفى حقيقة الأمر هناك حالات قليلة يمكن لـ F

أن ينتقل فيها فى كلا الاتجاهين فى موقع واحـــــد .

وقد يحدث استبعاد excision للبلازميد F من الكروموســـوم البكتيرى الذى اندمج فيه ، وإن كان ذلك نادر الحدوث . وغالبا ما يكـــون الاستبعاد غير متقن ، حيث أن قَطْعَةً cut واحدة قد تكون فى الدنا الكروموسومى المجاور (أنظر الشكل ٤ — ٧) . وهذه العملية مماثلـــــة لانتاج جسيمات استقال Transducing particles مـــن الليسوجينات لامبدا (λ) .

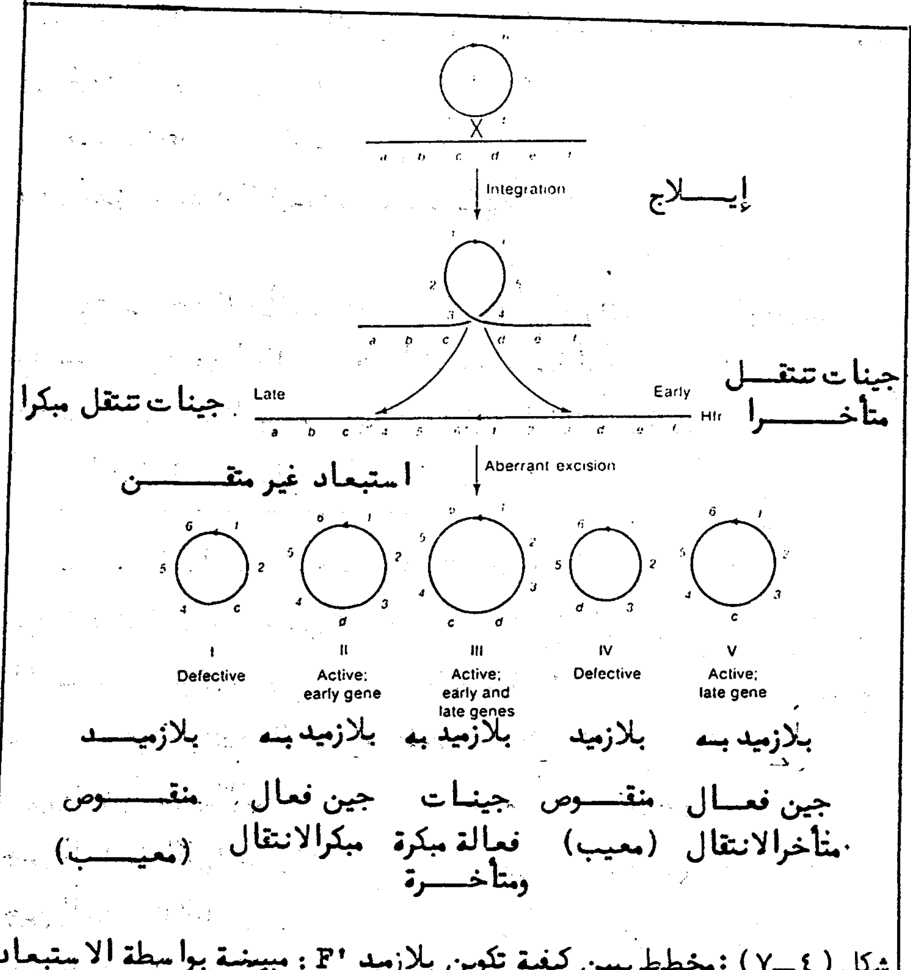
وتسمى البلازميدات F المحتوية على جينات من الكروموســـوم البكتيرى ببلازميدات F' (وهذه لها خصائص وراثية سوف نعرض لهـــا فى أجزاء لاحقـــــة) .

وتعتبر البلازميدات F' وسائل قيمة فى بحوث الوراثة الجزيئيـــــة ، وخاصة فى الدراسات التى لها علاقة بظاهرة السيادة dominance والتى تجرى فى خلايا ثنائية جزئيا Partial diploids (ميروزيجوت Merozygote) ، كما هو معروف فى تحليل الجيـــن المشغل لتخليق اللاكتوز lac operon . كما أن هـــذه البلازميدات F' ذات فائدة جَمَّة فى دراسة ميكانيكية نقل الدنا .

ثانيا : بلازميدات R (بلازميدات المقاومة للعقاقير الطبية) :

The Drug - Resistance (R) Plasmids

كانت أول محاولة ناجحة لعزل البلازميدات R الخاصة بمقاومة العقاقير الطبية من بكتريا الشيجللا Shigella dysenteriae (المسببـــة لمرض الدوسنتاريا) أثناء انتشار وباء الدوسنتاريا فى اليابان فى نهايـــة



شكل (٤ــ٧) : مخطط يبين كيفية تكوين بلازميد F' : مبينة بواسطة الاستبعاد غير المتقن aberrant excision من سلالة إ ·كولاى Hfr خاصة · البلازميدان I و IV فقدا جينات F ومن ثم أصبحا منقوصين · الطريقة العادية لتحديد وجود بلازميد F' تكون بواسطة جينات تنتقل متأخرة بواسطة خلية Hfr · البلازميد من الطراز II سوف لايتواجد لانه يحمل جينات انتقلت مبكرا ·

حقبة الخمسينات من هذا القرن • وبعد ذلك أمكن عزلها من بكتيريا المعى (إ•كولاى) وغيرها من البكتريات الاخر •

ويعرف نوعان من بلازميدات R :

(١) بلازميدات R القابلة للانتقال :

يحمل هذا الطراز من بلازميدات R نوعين من المعلومات الوراثية، نوع يُضْفِى درجة من المقاومة للخلايا الحاملة لها لعديد من المضادات الحيوية الفطرية ،والنوع الاخر يجعلها قابلة للانتقال ذاتيا •

أ — جينات المقاومة للمضادات الحيوية :

يرمز لجينات المقاومة للعقاقير فى بلازميدات R بطريقة مختلفة عن الجينات المقابلة فى كروموسوم إ•كولاى • فمثلا جين المقاومة للاستربتومايسين الكروموسومى يرمز له بـ str-r ،بينما الجين ذو الأصل البلازميدى يرمز له بـ Sm • وتشمل الجينات البلازميدية الاخر الشائعة :

	بلازميدى	كروموسومى
جين المقاومة للامبسللين	Ap	(Amp)
جين المقاومة للكلورا مفينيكول	Cm	(Cam)
جين المقاومة للكانا مايسين	Km	(Kan)
جين المقاومة للسلفوناميدات	Su	(Sul)
جين المقاومة للتتراسيكلين	Tc	(tet)

وتُظْهِر جينات المقاومة الكروموسومية والبلازميدية تأثيراتها بطرق مختلفة.

مثال : جينات المقاومة الكروموسومية تُظْهِر المقاومة كلية نتيجة لتغير فى بروتين ريبوسومى ،بينما تتحكم جينات المقاومة البلازميدية كلية فى تخليق إنزيمات تُثَبِّط المضادات الحيوية بمجرد دخولها الخلية،فمثلا يسيطر الجين البلازميدى Cm على تخليق "إنزيم الكلورامفينيكول أسيتيل ترانسفريز "

وهو إنزيم يستبعد مجموعة أسيتيل هامة لازمة لنشاط جزئ الكلورامفنيكول .

وقد تحمل بلازميدات R جينا واحدا فقط للمقاومة أو جينين اثنين أو أكثر . ولقد أمكن رسم خرائط وراثية لهذه البلازميدات بواسطة الاستقال بالفاج P_{22} ، فعلى سبيل المثال وجد أن الخريطة الوراثية للبلازميد R222 تحظى بالترتيب الجينى :

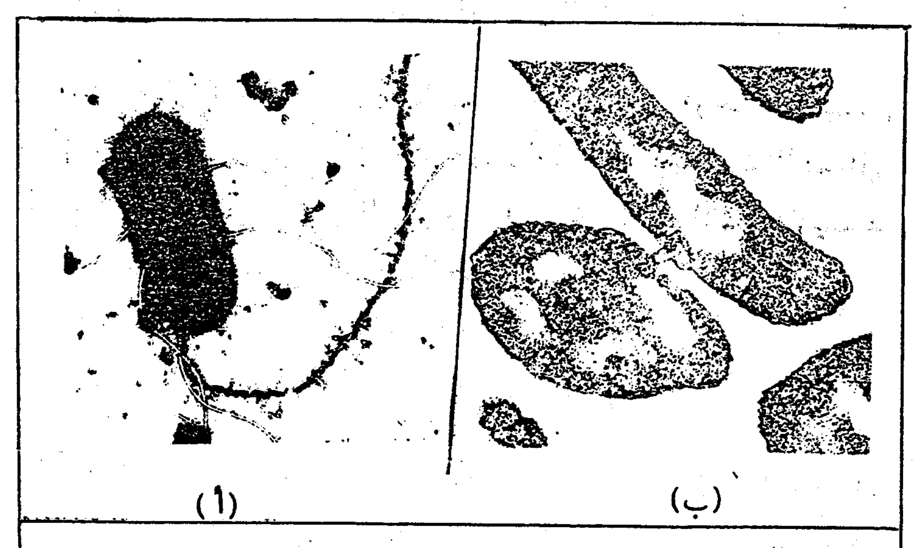
Su – Sm – Cm – Tc

(ب) جينات النقل الذاتى من خلال التزاوج البكتيرى :

تحتوى بلازميدات R التزاوجية جينات تسيطر على كل من تخليق قنوات التزاوج ونقل الدنا . وهذه البلازميدات تختلف عن بلازميدات R غير المختصة بالتزاوج . حيث الأخيرة تكون غير قادرة على نقل دنا الخاص بها على الاطلاق . وفقد القدرة على النقل قد ينشأ بواسطة الطفرات الموضعية أو الاقتضابات فى الجينات tra للعنصر R .

الخريطة الوراثية لبلازميد R قابل للانتقال :

تتكون الخريطة الوراثية لمعظم بلازميدات R من مقطعين متلاصقين من الدنا (الشكل ٤ — ٩) ، أحدهما يسمى RTF (مقطع نقل المقاومة Resistance Transfer Factor) وهو يشمل جينات تنظيم تناسخ الدنا و السيطرة على عدد نسخ البلازميد فى الخلية ، وكذلك جينات النقل ، وفى بعض الأحيان جين مقاومة المضاد الحيوى "تتراسيكلين Tetracycline" . وقد أمكن عزل هذا المقطع ووجد أن له وزن جزيئى يقدر بحوالى 11×10^6 دالتون . أما المقطع الثانى ، والذى يسمى أحيانا بالمحدِّد r-determinant فهو متغير فى الحجم ، حيث يتراوح وزنه الجزيئى ما بين عدة ملايين قليلة

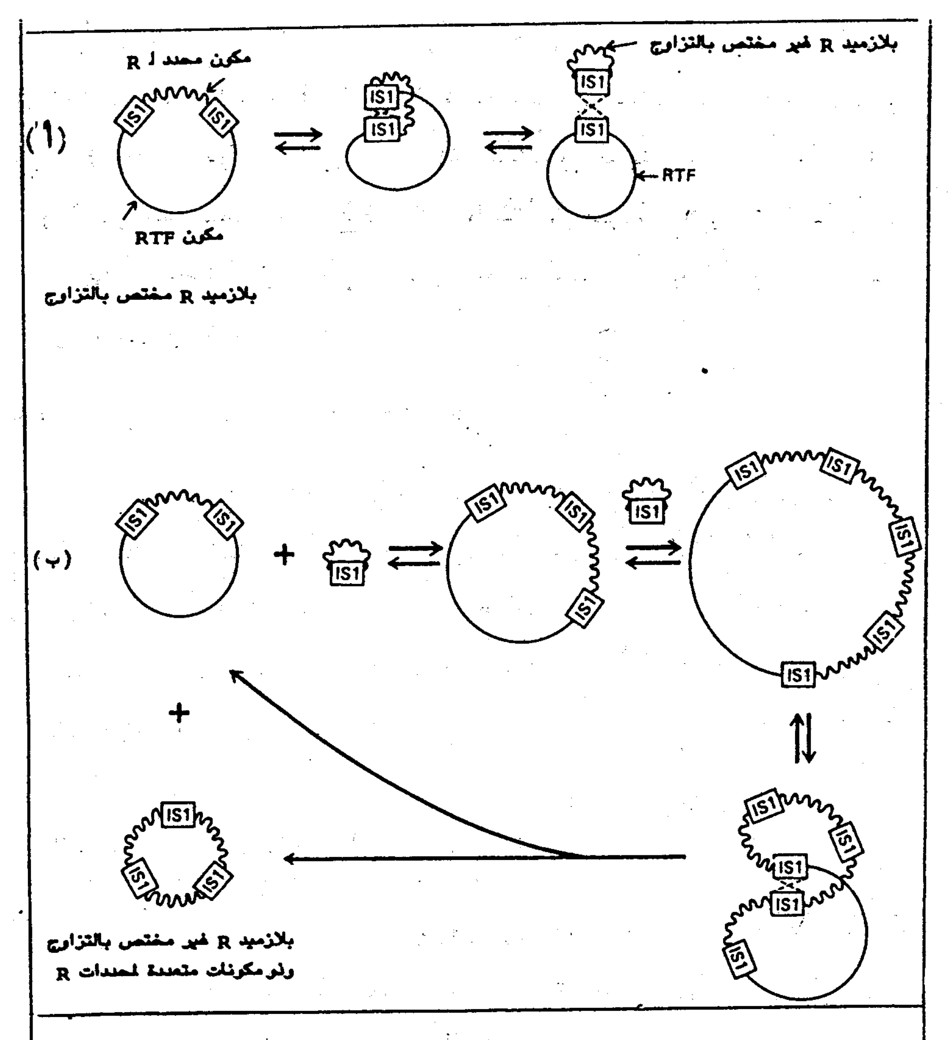


شـــكل (٤ـ٨)

(أ) صورة بالمجهر الالكترونى لخلية إ ٠كولاى يظهر بها قناة الجنس Sex pilus) ، وهى محاطة بعدد من فاجات R17 المختصة بالذكـــر (F-specific phage) والتى تجعل قناة التزاوج الدقيقة مرئيـــة على صورة ذيل خشن غامق ٠تمثل الشعرات الخمس الخفيفة حـــول البكتريم الأسواط flagella ، والشعرات الدقيقة تسمى الأهـــداب fimbrae.

(ب) صورة بالمجهر الالكترونى لخليتين من إ ٠كولاى أثناء التزاوج الخلطـــى Conjugation الخلية الصغرى خلية من الطراز F ، والخليـــة الأكبر تحتوى العنصر F' والأوبرون lac الخاص بتخليق اللاكتـــوز ٠

(عن L. Caro, J.Mol.Biol.,1966)



شكل (٤ـ٩) : (أ) رسم مبسط لخريطة البلازميد R ،مع ميكانيكية مقترحة لانفصال قابل للارتداد لبلازميد R مختص بالتزاوج إلى RTF وبلازميد R غير مختص بالتزاوج عند موقع إيلاج ISI .

(ب) تكوين عناصر محددات R (جينات مقاومة المضادات الحيوية) بنفس الاسلوب.

(عن كتاب الوراثة ـ جودينف ١٩٧٨) .

وحوالى أكثر من ١٠٠ × ١٠^{٦} دالتون . ويحمل هذا المقطع الجينات الأخر الخاصة بمقاومة المضادات الحيوية ، وهذه تشمل جينات مقاومة البنسلين (Pn) ، والامبسلين (Ap) ، والكلورامفينيكول (Cm) ، والاستربتومايسين (Sm) ، والكانامايسين (Km) والسلفوناميد (Su) ، وكما سبق الذكر قد توجد هذه الجينات منفردة أو فى توافيق من اثنين أو أكثر .

(٢) بلازميدات R غير القابلة للانتقال :

تعرف مجموعة أخرى من بلازميدات R صغيرة الحجم وتنقصها القدرة على الانتقال ، لكنها قد تحمل بعض جينات المقاومة مثل الجين tet . وأحد أهم هذه البلازميد هو البلازميد pSC101 ، والذى يبلغ وزنه الجزيئى حوالى ٥٫٨ × ١٠^{٦} دالتون ، وهذا البلازميد يستعمل بكثرة فى تقنيات الهندسة الوراثية .

علاقة بلازميدات R بالصحة العامة :

R-Plasmids and Public Hygiene

أن قابلية الانتقال للمكونات المحددة لـ R وقدرة بلازميد R ما على أن يحشد أعدادا كبيرة من جينات المقاومة لها تأثيرا ضمنية رئيسية على الصحة العامة ، طالما أن بلازميدات R قادرة على أن تنتقل ليس فقط من خلية لخلية داخل النوع الواحد ولكن أيضا تتخطى حواجز الأنواع . ومن ثمّ ، وعلى سبيل المثال ، فإن إ . كولاى وبروتيوس Proteus ، وفئات لا مرضية أخرى من الفلورا المعوية غالبا ما تأوى بلازميدات R تسمح للبكتريات بأن تعيش فى جرعات عالية من مضادات حيوية متناولة بواسطة عوائلها . وبناء على ذلك يمكن لبلازميدات R هذه أن تنتقل إلى بكتريات

مرضية معدية مثل "السالمونيللا " و "الشيجللا " (التى تسبب الدوسنتاريا) ، أو هيموفيلس أنفلونزا طراز b (والتى يمكنها أن تسبب الالتهاب السحائى) ولذلك تصبح هذه الكائنات أيضا مقاومة لنفس المجال من المضادات الحيوية .

والذى يزعج أكثر ذلك الاكتشاف الذى هو أن هذه الانتقالات تحدث بحرية فى مياة المجارى وفى الانهار الملوثة . ففى اليابان — حيث جُمِعَت إحصائيات للمقاومة ، ارتفعت الشيجللا المقاومة للعقاقير من حوالى ٠ر٢ ٪ فى عام ١٩٥٣ إلى ٥٨٪ فى عام ١٩٦٥ ، مع وضوح أكثر لايواء عوامل R ، و فى نفس الحصر ٨٤٪ من إ ٠ كولاى و ٩٠٪ من بروتيوس التى جمعت من مرضى مستشفيات كانت مقاومة بنفس الطريقة للمضادات الحيوية .

ومن ثَمّ يوجد سؤال بسيط وهو أن الاستعمال واسع النطاق وبدون تمييز للمضادات الحيوية قد أُوجد مستودعا من البكتريات المعوية المقاومة للعقاقير الطبية يمكنها أن تنقل جيناتها الخاصة بالمقاومة للكائنات المرضية المعدية وللبكتريات الاخرى فى البيئات الملوثة . ومن الواضح أن الجهود الطبية لايقاف العدوى قد أُعِيقَت كثيرا فى مثل هذه الحالات ، وأن الكائنات الممرضة المقاومة للعقاقير قد تُخَلِّق أوبئة خطيرة فى هذه الاماكن القابلة للتلوث كالمستشفيات والمناطق المعيشية المزدحمة . ولابد أن يكون الوضع قابلا للارتداد إذا اقتصر استعمال العقاقير العلاجية فى المستقبل على الاشخاص ذوى الحالات الحادة من المرض المعدى . وبالرغم من ذلك ، فهذه الحدود ، لسوء الحظ ، غير معمول بها الآن فى كثير من أقطار العالم .

ثالثا : بلازميدات الكوليسين (أو بلازميدات كول) :

The Colicinogenic or Col-Plasmids

يوجد نوع آخر من البلازميدات خاص ببكتريات المعى (إ٠كولاى) ٠وتقوم الخلايا البكتيرية الحاملة لهذا النوع من البلازميدات بتخليق بروتينات تعرف بالكوليسينات Colicins ،ولذلك سميت "بلازميدات كول " Col-plasmids " .وتعمل بروتينات الكوليسين بوجه خاص على قتل السلالات البكتيرية الخالية من هذه البلازميدات٠ كما أنّ هذه البكتريات الحاملة لبلازميدات كول تُخَلِّق أيضا بروتينات مناعة مما يجعلها عديمة الحساسية للتأثيرات قاتلة البكتريا للكوليسبينات التى تنتجها ،وهذا يوضح السبب فى كون خلايا إ٠كولاى تكون قادرة على حمل بلازميدات كول فى المقام الأول ٠

وتعرف أيضا بلازميدات أُخَر تختص بتخليق بروتينات قاتلات بكتريا أخرى ،مثل :

(١) نوع من بروتينات الكلواسين المحدد شفريا ببلازميد يسمى CloDF3 ، وهذا البروتين يكون ساما للبكتريات من نوع " إنتروبكتيريم كلواسيا (Enterobacterium cloacae) ٥

(٢) نوع آخر من الفبريوسينات يستعمل ضد الفبريوكوليرا ٠ Vibrio col ويعرف داخل عائلة الكول "Col-Family" مدى واسع من أنواع الكوليسينات ،يُمَيَّز كل منها بحرف معين (مثلا كوليسين B)،وكل نوع منها له طراز محدد من التثبيط لخلايا حساسة ،كما يتضح من الجدول (٤ـ١) ٠

ويمكن إدراك وجود طراز الكوليسين عن طريق اجراء عملية مسح assay شبيه للكشف عن وجود الفاجات ٠ فتوضع الخلية المنتجة للكوليسين على مرج lawn (بطانة) من الخلايا البكتيرية الحساسة

فيعمل الكوليسين على تثبيط نمو الخلايا البكتيرية المجاورة ،حيث تنتج منطقة رائقة تعرف باسم اللاكونا lacuna وسط الغشاء البكتيرى المعتم . ويعرف نوعان من الكوليسينات:

أ- الكوليسينات الحقيقية True colicins.

ب- الكوليسينات المتلفة للفاج Defective phage particles.

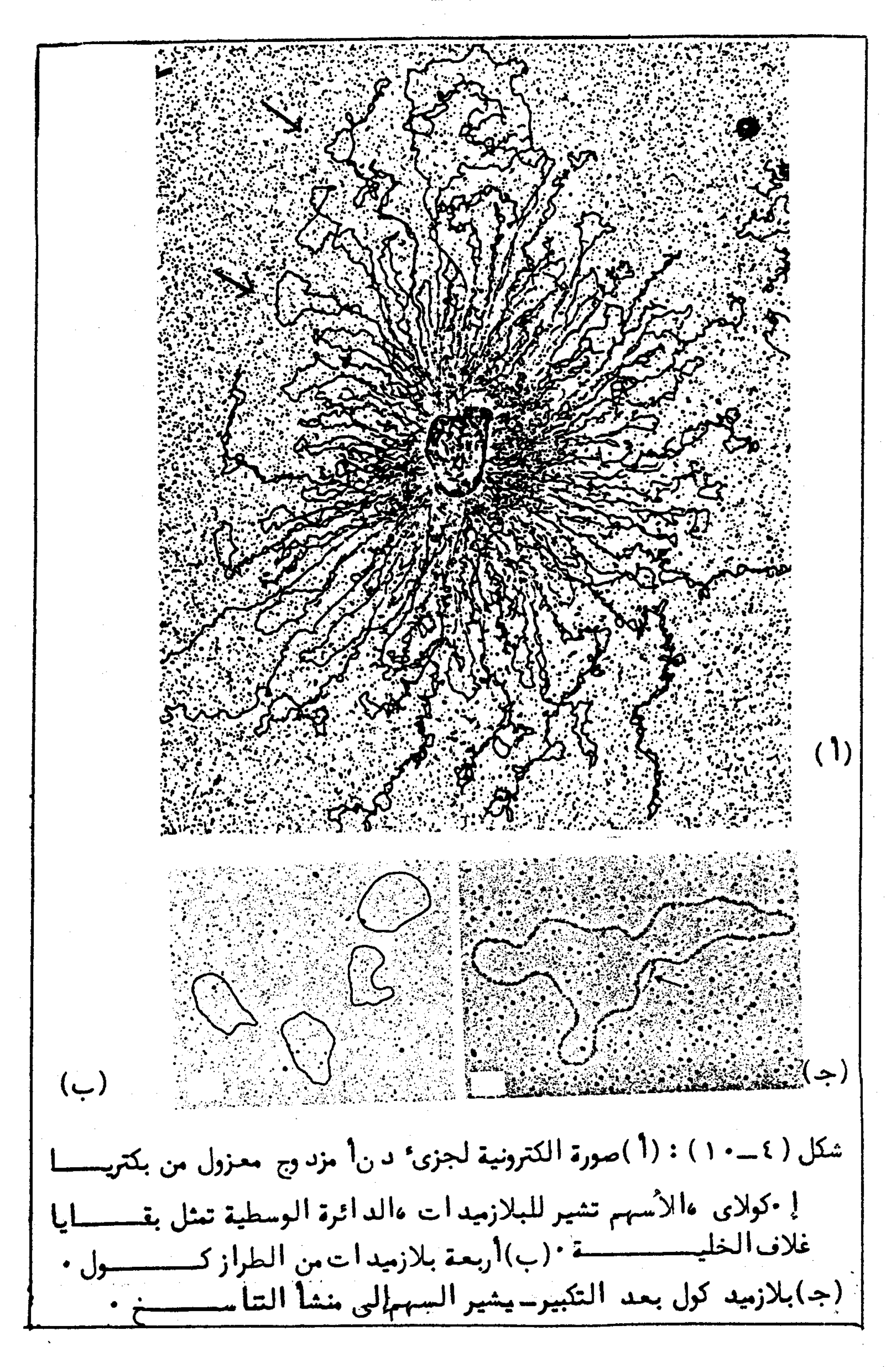
والفئة الأخيرة أمكن معرفتها من الدراسات التى أجريت على كثير من الكوليسينات المنقاة . ولقد وُجِدَ أن عددا قليلا من الكوليسينات عبارة عن بروتينات بسيطة ،أما الكوليسينات الأُخَر فهى تشبه أذيال الفاجات كما أظهرتها صور المجهر الالكترونى — ويُعْتَقد أنها نواتج جينات من بقايا بروفاجات قديمة . وتتراوح بلازميدات كول فى الحجم ما بين عدة ملايين من وحدات الوزن الجزيئى (الدالتون) للبلازميدات الصغيرة غير القابلة للانتقال إلى أكثر من ٦٠ × ١٠^٦ دالتون للبلازميدات القابلة للانتقال . ويعتبر البلازميد ColE1 من أكثر بلازميدات كول التى درست وله وزن جزيئى حوالى ٤ر٤ × ١٠^٦ دالتون ويبلغ طوله ٦٦٤٦ زوجا من القواعد وهو يستعمل بكثرة من بحوث الد ن أ المطعم Recombinant DNA والهندسة الوراثية .

ويبين الجدول (٤-١) عددا من الكوليسينات التى تُخَلِّقها بلازميدات الكوليسين الموجودة فى بكتريا إ . كولاى .

جدول (٤ — ١) : خصائص مجموعة كوليسينات من بكتريا إ ٠كولاى .

الكوليسين		تأثير الكوليسين
كوليسين	B	تسبب تلف الغشاء السيتوبلازمي
كوليسين	1b	
كوليسين	E1	تفصل العمليات التى تعتمد على الطاقة
كوليسين	K	نتيجة تأثير غير معروف على غشاء الخلية
كوليسين	E2	هو انزيم قطع بينى Endonuclease يجرد الدنأ degrades DNA
كوليسين	E3	إنزيم قطع بينى Endonuclease يقطع وحدات ر٠رنأ 16S rRNA

ويوضح الشكل (٤—١٠) مجموعة من بلازميدات كول المعزولة من خلايا إ ٠كولاى بعد فصل الدنأ الكلى لهذه الخلايا ، كما يبين الجدول (٤—٢) عددا من البلازميدات المنتشرة فى إ ٠كولاى وبعض البكتريات الأخر ٠



شكل (٤ـ١٠) : (أ) صورة الكترونية لجزىء د ن أ مزدوج معزول من بكتريا إ . كولاى ، الأسهم تشير للبلازميدات ، الدائرة الوسطية تمثل بقايا غلاف الخلية . (ب) أربعة بلازميدات من الطراز كول .
(جـ) بلازميد كول بعد التكبير - يشير السهم إلى منشأ التناسخ .

جدول (٤ — ٢) : بعض البلازميدات الطبيعية والصفات المشفرة وراثيا بها (في البكتريات)

البلازميد	الصفة المحددة شفريا
F, R1 , Col 1	— الخصوبة ، القدرة على نقل المادة الوراثية بواسطة التزاوج الاقتراني
CloDF13 (*Enterbacterium cheacae*) , ColE1	— انتاج البكتريوسينات.
SCP1 plasmid of *Streptomyces coelicolor*	— انتاج المضادات الحيوية.
p1258(*S.aureus*), R6	— المقاومة للمعادن الثقيلة (Cd^2 مثلا)
Col 1b, R46	— المقاومة للأشعة ما فوق البنفسجية
ColV, Hly	— عوامل الشراسة ، تولد الهيموليسين K88
Cam, Oct(*Pseudomonas*)	— أيض الكافور ، الاوكتين ... إلخ
Ti-plasmid of *Agrobacterium tumefaciens*	— المسبب للتورم التاجي في النباتات.
EcoR1, production of and methylase by plasmid of Ry13	— إنتاج إنزيمات القطع البينية — وانزيمات الميثيليز المستعملة في الهندسة الوراثية

* البلازميدات المذكورة مختصة ببكتريات المعى (إ . كولاى) مالم يُشر بغير ذلك.

وصف لبعض بلازميدات الكائنات ميزات النوى :

كما سبق أن أشرنا ، ينتشر وجود البلازميدات في العديد من الكائنات ميزات النوى ، وفيما يلي سوف نعرض وصفا لبعض من هذه البلازميدات ، وخاصة التي :

أ ـ تم تمييزها بدقة كافية .
ب ـ تم استعمالها في تشييد ناقلات مطعمة Recombinant vectors.
جـ ـ قد تكون وسائل نقل فعالة في هندسة الكائنات العليا وراثيا .

وللتسهيل تصنف هذه البلازميدات طبقا لمصدرها على الوجه التالي :
(١) بلازميدات ذات أصل نووي .
(٢) بلازميدات ذات أصل ميتوكوندري .
(٣) بلازميدات مجهولة الأصل .

أولا : بلازميدات ذات منشأ نووي :

(١) البلازميد 2µm في خميرة الخباز S. cerevisiae :

يعتبر أول بلازميد تم اكتشافه عام ١٩٦٧ في كائن ميز النوى . ويتكون من دائرة مغلقة من الدنأ (cccDNA) ، وتوضح صور المجهر الالكتروني أن الطول الكونتوري لهذا البلازميد يتراوح ما بين ٨ر١ ـ ٢ ملليميكرون ، وهو موجود في غالبية سلالات خميرة الخباز . ويتراوح عدد نسخه في الخلية الواحدة ما بين ٦٠ ـ ١٠٠ نسخة ، ومن ثم فهو يمثل حوالي ٣٪ من كل الدنأ الخلوي للخميرة . ويتواجد هذا البلازميد ـ في معظم الأحوال ـ خارج النطاق

الكروموسومى و هو يسلك سلوكا لامندليا بالرغم من تواجده داخل الغشاء النووى . ويعتبر هذا البلازميد "كروموسوما مُصَغّرا mini-chromosome ". وله القدرة على الاندماج فى كروموسومات الخميرة وعند ما يحدث ذلك تظهر اختلافات كروموسومية شديدة ، مما يجعل له مجالا هاما فى الاستخدام كمُوَجِّه فى الهندسة الوراثية .

وعلى خلاف البلازميدات ذات المنشأ الميتوكونديرى ، يُصَرّ هذا البلازميد فى نيوكلوسومات تحتوى على تركيب من لُبّ الهستون . وتبلغ كثافة الترسيب للبلازميد 2Jm ١٫٦٩٨ ج /مللتر بينما تبلغ كثافة الترسيب للدنأ النووى للخميرة ١٫٧٠١ ج /مللتر ، ولدنأ ميتوكوندرياتها ١٫٦٨٢ ج /مللتر ، مما يؤكد طبيعة المنشأ النووى لهذا البلازميد .

وطبقا لتكنيك كلاينشمت (Kleinschmidt, 1968) لتحديد الوزن الجزيئى لدنأ مزدوج الخيط dsDNA ، فإنّ :

1 Jm dsDNA = 2.1 megadalten = 3.14 Kbp

∴ طول هذا البلازميد =

2 Jm x 2.1 (md) = 4.2 megadalten (MW)

2Jm x 3.14 Kbp = 6.28 Kbp

وظيفة البلازميد 2Jm :

أظهرت الدراسات الحديثة وجود تلازم مظهرى بين تواجد البلازميد والخصائص التالية للخميرة :

١ـ مقاومة المضاد الحيوى "أوليجومايسين Oligomycine "

٢ـ تكوين القطاعات المميتة lethal sectors فى مستعمرات الخميرة .

٣ـ له وظائف جزيئية هامة مما يجعله ذا أهمية خاصة لتشييد ناقلات vecters استزراع تستخدم فى مجال تحريك الجينات بين أنواع الخميرة .

(٢) بلازميد مقاومة الكوبلت Cobalt Resistance plasmid :

أكتشف فى العفن Dictyostelen discoideum وهو الفطر الوحيد الذى وصف به بلازميد دائرى . وله قدرة على جعل هذا الفطر يتحمل تركيزات من أملاح الكوبلت ،ويستعمل فى تخليص البيئة من المعادن الثقيلة .

ويعتبر العنصر كوبيا copia فى الدروسوفلا من البلازميدات ذات المنشأ النووى ،وهو من أهم العناصر الوراثية المتنقلة Transposons ويأخذ التنظيم الدائرى خارج نطاق النواة .

ثانيا : بلازميدات ذات منشأ ميتوكونديرى :

ومن أمثلتها :

١ـ بلازميد الشيخوخة Senescence plasmid ،ويسبب سرعة ذبول ميسيليوم الفطر Podospora anserina .

٢ـ بلازميدات العقم الذكرى السيتوبلازمى فى الذرة الشامية .

٣ـ البلازميد Poky الذى يوقف النمو فى النيوروسبورا .

ثالثا : بلازميدات مجهولة المنشأ :

ومنها البلازميد القاتل فى البراميسيوم ،ويتميز بأنه البلازميد الوحيد المعروف حتى الآن يتكون من جزئ رنا مزدوج الخيط dsRNA . ويبلغ الوزن الجزيئى لهذا البلازميد حوالى ١٥ × ١٠^{٦} دالتون ،وهو يحتوى على حوالى ١٠ جينات للتناسخ ،وعدة جينات لتخليق مادة البراميسين القاتلة، وهى تشبه إلى حد كبير بروتينات الكوليسين البكتيرية .

البلازميدات وكلونة (استزراع) الـ د ن أ Plasmids and DNA Cloning:

فى عام ١٩٧٣ أفاد كلٌّ من شانج وكوهين أنهما كانا قادرين على عزل قِطَع من د ن أ الكروموسوم الرئيسى الخاص ببكتريا الاستافللوكوكس Staphylococcus ، ثم وصلا قطعا فردية إلى بلازميدات غير مختصة بالتزاوج ، وعندما أدخلت هذه البلازميدات المطعمة الجديدة الى بكتريا إ ٠كولاى ، عبرت جينات الاستافللوكوكس عن نفسها بطريقة صحيحة ، وانتقلت بواسطة عوائلها من إ ٠كولاى ٠ ولقد أدرك شانج وكوهين أن أيّ مزرعة من خلايا إ ٠كولاى العائلة ربما تحمل بلازميدا واحدا فقط ذا اتحاد جديد ، ومن ثم قطعة واحدة من د ن أ الاستافللوكوكس ، وبناء على ذلك فبتمية أعداد كبيرة من مستعمرة معينة من إ ٠كولاى ، فان كميات كبيرة من مقطع معين من الهيئة الجينية للاستافيللوكوكس يمكن الحصول عليها ٠ وبناء على ذلك ، فان "تكنيك شانج - كوهين" أصبح يسمى استزراع الـ د ن أ ، وقد أصبح حاليا - هذا التكنيك - ذا استعمالات شاسعة فى مجال الهندسة الوراثية ٠ وسوف نتناول البلازميدات كناقلات Vectors فى تقنيات تكنولوجيا الجينات والهندسة الوراثية فى باب لاحق.

الاخطار الكامنة لتكنولوجيا كلونة (استزراع) الـ د ن أ ودور البلازميدات المطعمة وراثيا (Recombinant plasmids):

تحمل تكنولوجيا كَلْونة الـ د ن أ معها أخطارا كامنة ٠ فالبكتريات الحاوية لبلازميدات باتحادات وراثية جديدة يمكن تصورها أنها تحمل أخطاراً للصحة والبيئة ٠ ولكن طبيعة وحجم هذه الاخطار من الناحية

النظرية عظيم جدا ــ فعلى سبيل المثال ،سلالة شرسة للغاية من بكتريا إ ٠كولاى يمكن أن تُخَلَّق حاملة لجينات مسببة لأورام سرطانية يمكنهـــا أن تنتقل عن طريق العـــدوى ٠

وفى محاولة لتقليل هذه الأخطار الكامنة ،فقد وضع باحثوا الوراثـــة الجزيئية فى الولايات المتحدة قواعد يجب أن تتبع عند اجراء تجارب للـ د ن أ ذى الاتحادات الجديدة ،وتحدد هذه أنه بالنسبة لأنواع كثيرة من التوافيق الجينية بين ميزات النوى ــ بدائيات النوى ،فان تجارب الد ن أ المطعم (ذى الاتحادات الجديدة) يجب أن تجرى فيما يسمى "بالمختبرات مانعة الانتشار". ويجب أن تكون سلالات إ ٠كولاى المستعملة من نوع EK-2 ذات تركيب وراثى يجعل من غير المحتمل بدرجة عالية جدا ــ أن تعيش البكتريا فى المعـــى الآدمى ٠ فالسلالة X 1776 على سبيل المثال ،التى ربيت بواسطـة كورتس ،تحمل مجموعة من الطفرات تجعلها حساسة لأملاح العصـــارة الصفراوية الموجودة فى المعى ٠ وتحتاج السلالة X 1776 أيضا ثيميـــن وحمض الد" اى أمينوبيملك DAP ، وهو أحد مكونات جدار الخليـــة ٠ لذلك مالم تُعْطَ هذه المكونات من الخارج ،فإنّ خلايا إ ٠كولاى تفشل فى أن يتناسخ د ن أ الخاص بها أو تموت من خلال التحلل الاسموزى ٠ ونتيجـــة لذلك ،تفشل خلايا X1776 فى أن تعيش فترة المرور خلال الجهاز المعوى للحيوانات التجريبية ،حتى عندما تُبْتَلَع بأعداد كبيـــرة ٠

تطبيقات تكنولوجيا استزراع الد ن أ والهندسة الوراثية :

إنّ الفوائد الكامنة للد ن أ المستزرع بالنسبة للبحث الوراثى يصعـب تقديرها ،إلا أنه يمكن أنْ نُورِد فيما يلى بعضاً من هذه الفوائـــد :

(١) الاستزراع مفيد في الحصول على كميات كبيرة من جين معين ،أو مقطع من الهيئة الجينية . فمثلاً عزل براون ومساعدوه جينات ر.رن أ المكررة من ضفدع فردي ،ثم قطعوا الـ د ن أ الى قطع بانزيمات القطع المتخصصة Restriction enzymes ،وأ ستزرعوا الشظايا لدرجة تسمح بالحصول على مدد وفير من مقاطع محددة من جين الـ ر.رن أ الزائد .

(٢) الاستزراع مفيد في الحصول على مقاطع صغيرة من د ن أ محتو لجينات معينة. فعلى سبيل المثال جزأ العالم كلارك وكاربون د ن أ بكتريا إ.كولاي يرى الطراز الى مقاطع عشوائية ،ثم وصلا مقاطع فردية على عوائل من بلازميدات كولا ColE1 ،وأدخلا البلازميدات في سلالات من F+ من إ.كولاي . وبهذه الطريقة نشأ " مصرف (بنك) " من ٢٠٠٠ سلالة من إ.كولاي مقاومة للكوليسين — ويطلق على ذلك حاليا لفظ "بنك الجينات Gene Bank " — ويعرف كثير من معاهد الوراثة حاليا لديها بنوك للجينات.

(٣) إنّ استزراع جينات فردية من نوع مميّز النوى مع عناصرها المسيطرة المتجاورة يتيح إمكانية تفهم كيفية تنظيم تعبير الجين في الكائنات مميزة النوى — وهذا أمر يصعب الوصول إليه في الكائن الراقي — حيث تبقى الجينات متشابكة في الهيئة الجينية العملاقة مميزة النواة بتعقيداتها المحيرة .

(٤) لقد ثبت أن الاستزراع ذو أهمية طبية وزراعية كبرى . فعلى سبيل المثال — قد تم استزراع جينات الإنسولين في البكتريا — وقد حدث تقدم كبير في اتجاه نقل جينات تثبيت النتيروجين الجوى الى الهيئات الجينية لنباتات محاصيل لم تكن هذه الجينات موجودة بها (مثلا من البقوليات إلى النجيليات) . كذلك أمكن نقل بعض جينات المقاومة لأمراض نباتية معينة إلى خلايا أنواع أخر كانت خالية من هذه الجينات.

الميتوكوند ريـات Mitochondria

الجهاز الوراثى الميتوكوند يـرى : Mitochondrial D N A

تعريف: الميتوكوند ريات هى عُضَيّات سيتوبلازمية صغيرة ، توجد فى جميع خلايا الكائنات مميزات النوى eukaryotes ، ولاتوجد علـى الاطلاق فى البكتريات ، أو الفيروسات ، وهى تحتوى إنزيمات دورة كربس ، وتقوم بعملية الأكسدة الفوسفورية فى الخلية ، وتلعب دورا هاما فى التخليق الحيوى للأحماض الدهنية فيهـا .

تركيب الوحدة الميتوكوندرية :

تكون الوحدة الميتوكوندرية عبارة عن جسيم سيتوبلازمى على شكل قارب بيضاوى الشكل ، له غلاف خارجى أملس ومستمر ، وغلاف داخلى متقطّع مكوّن من طبقات مرتبة على شكل أرفف (الشكل ٤-١١) . ويبلغ حجم الوحدة الميتوكوندرية الواحدة حوالى حجم الخلية البكتيرية الصغيـرة ، وتحتوى كل وحـدة علـى :

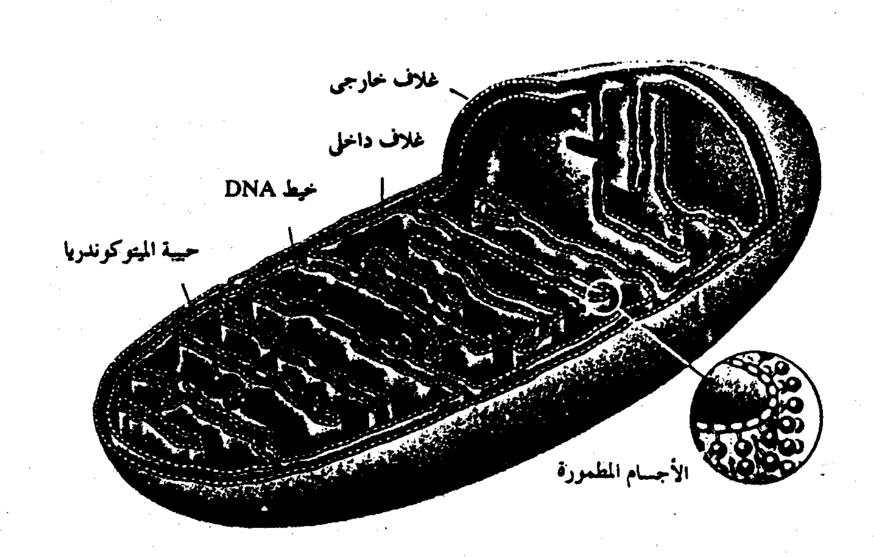
أ- مقطع من الدنأ مزدوج الخيط (dsDNA) دائرى مغلـق ، عارٍ وخالٍ من الهستونات أو أىّ مكوّنات أخر للكروموسومات النوويـة ، ويسمى مجازا " الكروموسوم الميتوكوند يرى " ، ويختلف حجم مقطع الدنأ الميتوكوند يرى باختلاف نوعية الكائن مُميّز النوى ، فهو يبلغ حوالـى :

١٠ × ١٠ دالتون فى خلايا الكائنات الحيوانية ،

٥٠ × ١٠^٦ " " الفطريـات ،

٧٠ × ١٠^٦ " " النباتات العليا .

ولقد أثبتت الدراسات أنّ تناسخ هذا الدنأ يتم بواسطة إنزيمات بلمرة دنأ الميتوكوند يرى الخاصة والتى تؤدى وظائفها مستقلة عن نظيراتها النووية .



شكل (٤ ــ ١)

* شكل يبين ميتوكوندريا فردية يظهر فيها الغلاف الخارجى المستمر الأملس ــ والغلاف الداخلى غير المستمر و الملتف مكونا غلافاً مزدوجاً يسمى "كريستا" " cristae " .

عن كتاب : (Principles of Genetics, Gardner, 1984).

ويحتوى جينوم الوحدة الميتوكوندرية على عدد محدود من الجينات التى تسيطر شِفْرِيًّا على عدد محدود من الوظائف الخلوية والتركيبية ٠

ب ـ جهاز مُميّز لتخليق البروتين ، يحتوى على وحدات خاصة من الريبوسومات ribosomes ، ووحدات من الأمينوأسيل aminoacyl tRNA (وحدات رنأ مشحونة بالأحماض الأمينية) ٠ وتختلف عملية تخليق البروتين الميتوكوندرى اختلافاً بَيِّناً عن ميكانيكية تخليقه من خلال الجهاز الوراثى النووى ٠

ويلاحظ أنّ الريبوسومات الموجودة فى الميتوكوندريات تشبه إلى حدٍّ كبير تلك الموجودة فى البكتريات ، وهى تختلف كثيرا عن تلك الموجودة فى السيتوبلازم الخاص بالخلية ميزة النواة ، حيث تكون ريبوسومات ميتوكوندريات الخلايا الحيوانية صغيرة ، أما تلك الخاصة بالفطريات والنباتات فتكون كبيرة ٠

وبغض النظر عن الحجم الريبوسومى ، فإنّ تخليق البروتين على الريبوسومات الميتوكوندرية يكون حسّاساً ـ بوجه عام ـ لنفس المجال من المضادات الحيوية (مثل الاستربتومايسين والكلورامفينكول ٠٠٠ إلخ)، مثل تخليق البروتين على الريبوسومات البكتيرية ٠ ومن الواضح أن هذا سبب إضافى لكون الاستعمال غير المُرشَّد للمضادات الحيوية يكون مصحوبا بضرر بالغ ٠

جـ ـ تحتوى الميتوكوندريات ـ فى جميع خلايا الكائنات ميزات النوى ـ على إنزيمات بلمرة رنأ فريدة من نوعها ، تحظى بمتعددة ببتيدات واحدة ذات وزن جزيئى عالٍ ٠ وتكون بعض إنزيمات بلمرة الدنأ الميتوكوندرى mtDNA حساسة للمضادّ الحيوى "الريفامبسين" ، بينما لاتكون الأخُرَ كذلك ٠

ويلاحظ أنّ الـ د نأ الميتوكوندري يختلف عن الـ د نأ النووي لنفس الخلية في كل من تركيبه النوتيدي وكثافته الترسيبية (BD)Bouyant density -
فعلى سبيل المثال ، نجد في الخميرة أن ١٠ – ٢٠٪ من الـ د نأ الخلوي موجود في الميتوكوندريات ، وأنّ كثافة الترسيب لهذا الـ د نأ = ١٫٦٨٣ جم / ملليلتر ، بينما كثافته للـ د نأ النووي لنفس الخلية = ١٫٦٩٩ جم / مل ، ويحتوي الأول على ٢١٪ من قواعد ج س ، والأخير على ٤٠٪ من قواعد ج س .

تمييز الجينات المُشَفَّرة في الجهاز الوراثي الميتوكوندري :

بينت الدراسات الوراثية والتي أجريت خلال حقبة الستينات من هذا القرن ، أنّ الانزيمات العديدة ، والمكونات الغشائية والبروتينات الريبوسومية والمكونات الأخرى الموجودة بالميتوكوندريات ، لايمكن أن تكون جميعها مختزنة شفريا داخل مقطع يتراوح ما بين ٥ – ٢٥ ميكرونا من الـ د نأ فقط . فعلى سبيل المثال ، الكروموسوم الميتوكوندري الحيواني يحتوي على د نأ كافٍ لحوالي ١٥ – ١٨ جينا تركيبيا St. genes ،
لذلك قام بعضٌ من علماء الوراثة بمحاولة تحديد أيّ المكونات الميتوكوندرية يتم عن طريق الجهاز الوراثي النووي / السيتوبلازمي ، وأيّها يتم من خلال الطاقم الجيني الميتوكوندري ذاته . وفيما يلي عرض ملخص لبعض هذه الدراسات :

– الطريقة الأولى : يجرى تسميم للنظام الوراثي العُضَيّ بواسطة بعض المضادات الحيوية كالريفامبسين والكلورامفينكول ، ثم بعد ذلك يجرى اختبار يُحَدَّد عن طريقه أيّ المكونات استمر تخليقه وأيّها تم تثبيطه (أنظر الجدول ٤ – ٣) .

ـ **الطريقة الثانية :** وتشمل عزل جزيئات رنأ الموجودة داخل الميتوكوندريات ويجرى اختبارها لما إذا كانت تلتحم مع الـ متـ د نأ فى دراسة تهجين دنأ ـ رنأ DNA-RNA hybridization .

ـ **الطريقة الثالثة :** وتشمل دراسة القدرات التخليقية الحيوية الميتوكوندرية لطوافر معينة من الخميرة التى تحتوى على مت . د نأ مُتغيّر كثيرا ، أو خالية منه (الجدول ٤ ـ ٤) . وفى الجدولين التاليين ملخص لنتائج هذه الدراسات:

جدول (٤ ـ ٣) : المكونات الميتوكوندرية فى طوافر خميرة ذات مت.د نأ شديد التغيـــر .

مكونات غائبــة :

- سلسلة تنفسية فعالة ، سيتوكروم bcl وانزيم أكسدة السيتوكروم فعّالان
- نظام نقل طاقـــة فَعّـــال .
- نظام تخليـــق بروتين فعّـــال ، ريبوســـومات .

مكونات موجودة :

- غشاء خارجى ـ غشاء داخلى (مُتغيّـــر) .
- أجزاء من سلسلة تنفسية (سيتوكرومات cl , c ـ بعض وحدات فرعيـــة من سيتوكـــروم aa_3) .
- بقايا من نظام نقل الطاقة : أنزيم الادُنين ثلاثى الفوسفات (ATPase)
- أنظمـة حمـــل ـ دورة كربـــس Cryps - cycle .
- إنزيمات بلمرة د ن أو رن أ ، بروتينات ريبوسومية ـ عوامل استطالـــة .

جدول (٤ـ٤): التخليق الحيوى لمعقدات الانزيمات الميتوكوندرية الرئيسية فى الخميرة .

معقد الانزيم	عدد الوحدات الفرعية لمتعددة ببيتدات الانزيم		
	مُخلقة فى الميتوكوندريات	مُخلقة فى السيتوبلازم	العدد الكلى
إنزيم أكسدة السيتوكروم (aa3c)	٣	٤	٧
معقد السيتوكروم bc1	١	٦	٧
أنزيم الأدنين ثلاثى الفوسفات ATPase (وهو حساس للأوليجومايسين)	٤	٥	٩
وحدات فرعية ريبوسومية كبيرة	صفر	٣٠	٣٠
وحدات فرعية ريبوسومية صغيرة	١	٢١	٢٢

ولقد بينت هذه الدراسات الآتى :

— تقع معظم المكونات الميتوكوندرية تحت السيطرة الشفرية للجهاز الوراثى النووى وتُخلق فى السيتوبلازم .

— الهيئة الجينية الميتوكوندرية مُخصصة لتخليق جزيئات رنا معينة ، ولوحدات فرعية معينة لثلاثة بروتينات ميتوكوندرية .

الخرائط الفيزيائية للهيئة الجينية الميتوكوندرية :

أثبتت الدراسات التى أجريت على الكروموسوم الميتوكوندرى أنه مناسب جدا

لرسم الخرائط الفيزيائية نظرا لصغر حجمه ، وتوجد عدة طرق لتوقيع الخرائط الوراثية الميتوكونديرية :

(١) رسم الخرائط بالمسخ : Denaturation mapping

ويستعمل لذلك بعض المضادات الحيوية كما سبق الذكر — ويؤدى ذلك إلى :

— مسخ مسافات طويلة من مت ٠د ن أ الغنى بـ أ ث بحيث تظهر كفقاعات "مسخ" تعمل كعلامات تميّز مقطعا من الكروموسوم ضد الآخر .

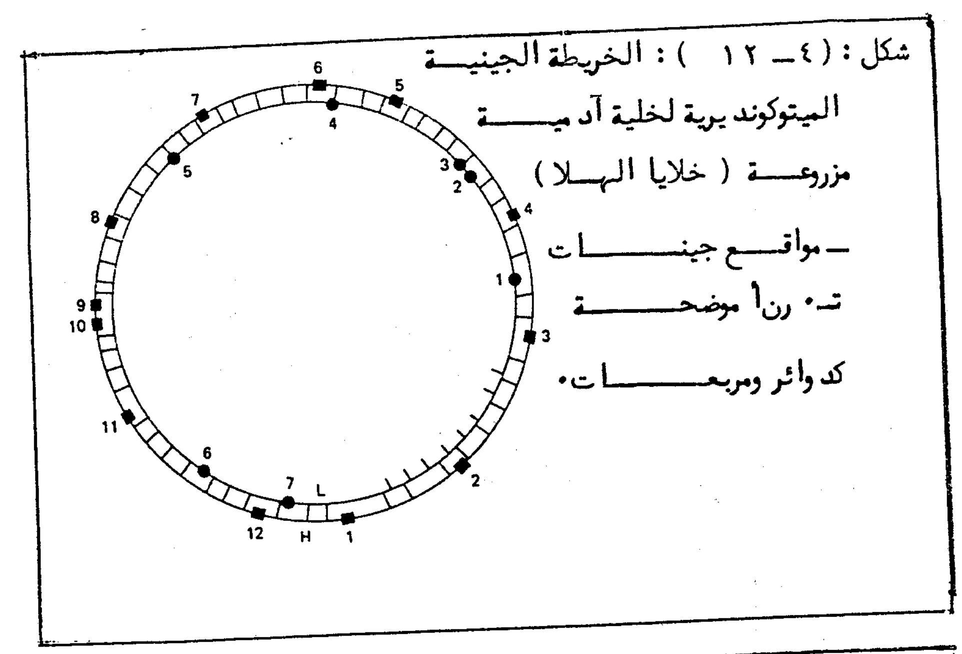
— تسمح المناطق الغنية بـ أ ث بتقدير دقيق لأطوال اقتضابات معينة من الكروموسوم الميتوكوندرى .

— أثبت رسم الخرائط بالمسخ أنّ مت ٠ د ن أ الكبير الخاص بالفطريات يحظى بمقاطع كثيرة غنية بـ أ ث ، وهذه تكون غائبة من الهيئة الجينية للكائنات الحيوانية .

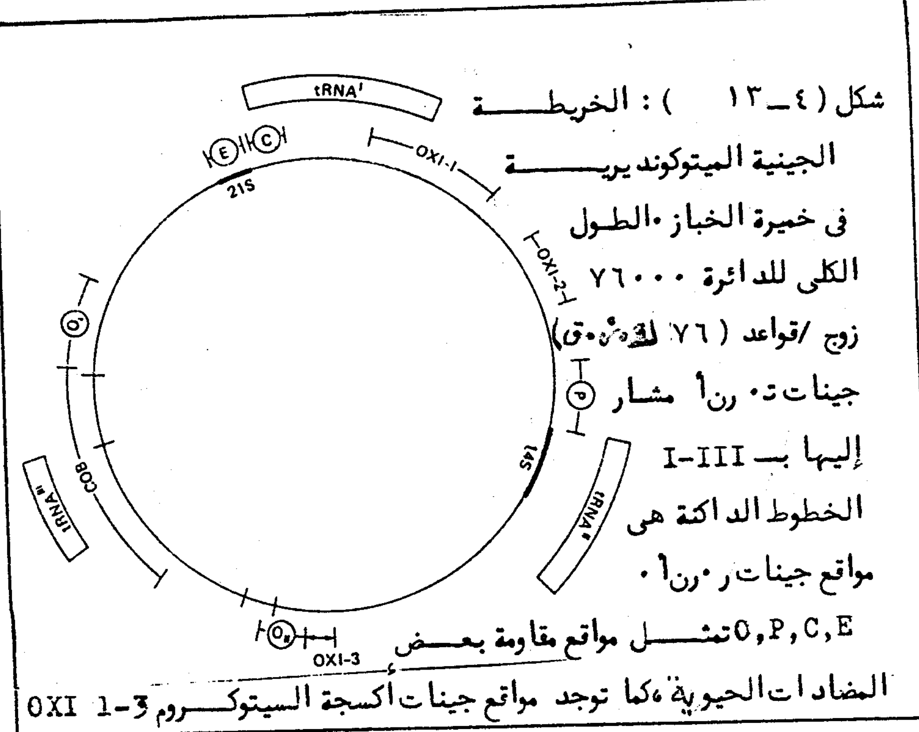
(٢) رسم الخرائط بالتهجين بين جزيئات مت د ن أ و رن أ :
DNA-RNA hybridization mapping

لقد أجريت هذه التقنية على خلايا الهلا HeLa وثبت من ذلك وجود جينات رن أ مجاورة بعضها لبعض على الخيط الخارجى H وعلى الخيط الداخلى L لادن أ الميتوكونديرى مزدوج الخيط . وأمكن تحديد ١٢ موقعا على الخيط الثقيل و٧ مواقع على الخيط الخفيف . (الشكل ٤ — ١٢) .

ولقد بينت دراسة الهيئة الجينية الميتوكوندرية للخميرة أن جينات تخليق ت٠رن أ الخميرة تقع فى ثلاثة مقاطع محددة (أنظر الخريطة ، الشكل ٤ — ١٣) .



شكل : (٤ ـ ١٢) : الخريطة الجينية الميتوكوندرية لخلية آدمية مزروعة (خلايا الهلا) ـ مواقع جينات ت٠ رن أ موضحة كدوائر ومربعات ٠



شكل (٤ ـ ١٣) : الخريطة الجينية الميتوكوندرية فى خميرة الخباز ٠ الطول الكلى للدائرة ٧٦٠٠٠ زوج /قواعد (٧٦ ك٠ق) جينات ت٠ رن أ مشار إليها بـ I-III الخطوط الداكنة هى مواقع جينات ر٠ رن أ ٠ O,P,C,E تمثل مواقع مقاومة بعض المضادات الحيوية ،كما توجد مواقع جينات أكسجة السيتوكروم OXI 1-3

وبينت هذه الدراسات أيضا وجود اختلافات فى التنظيم الوراثـــى للهيئات الجينية الميتوكوندرية المختلفـــة .

(٣) رسم الخرائط باستعمال إنزيمات القطع المتخصصـــة :
Restriction mapping :

باستعمال هذه التقنيـة أمكن الحصول على شظايا من متـ.د ن أ تـم استزراعها فى خلايا إ .كولاى . ودلت النتائج التى أمكن الوصول إليها إثبات وجود مواقع الجينات التى أمكن تحديدها بالطريقة السابقة باستعمال المجهر الالكترونى . ولقد مكنت هذه الطريقة من استكشاف أنظمة نسخ ـ ترجمـــة
Transcription-translation systems
مزدوجة خاصة بجينات مُشفّرة فى الكروموسوم الميتوكونديـــرى .

أمثلة من الجينات المحمولة فى الكروموسوم الميتوكوندرى لبعض الكائنات:

- فى النيوروسبورا : Neurospora

جينات السلالة الطافرة بوكى Poky (كيسية) (mi-1 mutant) والتى تتميز ببطء النمو وضعف التنفس واحتوائها على ميتوكوندريات شاذة . وعندما عزلت هذه الميتوكوندريات الكيسية وحُقنت فى هيفات الفطر البريـــة انتقلت الصفة إلى الطراز البـــرى .

فى الانســـان : Humans

طفرة مقاومة المضاد الحيوى الكلورامفينيكول فى خلايا الانسان الـــتى أعزيت للـــد ن أ الميتوكوندرى .

فى نبات الاذرة : Maize

طفرة العقم الذكرى cmsT والتى تجعل النبات قابلا للاصابة بكثير مـــن

أمـــــراض اللغحـــــة ٠

فى خيرة الخباز : Baker's yeast

كثير من طفرات نقص التنفس والمسماة بيتيت (الصغيرة petite) وتسمى rho^- تظهر توارثا لا مندليا وأمكن توقيع جيناتها على الكروموســـوم الميتوكونديرى للخميرة ٠ وهذه تكون غير قادرة على تخليق إنزيمات فعالـــة لأكسجة السيتوكروم و السيتوكروم bc_1 ، وكذلك انزيم الادنين ثلاثـــى الفوسفـــات الحساس للأوليجومايســـين ٠

الميتوكوندريات وعلاقتها بانتاج اللبن فى الماشيـــة :

يحاول بعض العلماء البحث عن إجابات لبعض الأسئلة حول الكفـــاءة الوظيفية للميتوكوندريات الموجودة فى سيتوبلازم الخلايا الافرازية للغـــدد الثديية للحيوانات ، وما إذا كان لها دور فى التحكم فى كمية اللبن المتكونـة وهل يمكن الانتخاب لهذه الصفة الوظيفية ؟ ولقد استخدموا للاجابـــة عن هذه الأسئلة سلالتين من الفـــئران وسلالتين من أبقار اللبـــن ذوات قدرات مختلفة فى انتـــاج اللبـــن ٠

وتعتمد معظم الوظائف الخلوية الحيوانية بما فى ذلك عمليات تخليـــق اللبن على مركب الادنين ثلاثى الفوسفات(ATP) ٠

وقد لوحظ وجود طلب كبير للطاقـــة فى نسيج الثدى أثناء عمليـــة إدرار اللبن ، وكذلك تباين كامن فى كفاءة توليد الادنين ثلاثى الفوسفات (ATP) بين المجموعات المختلفة من الميتوكوندريات ٠ وبناء على ذلك يفترض العلماء أن جزءا من الاختلافات الوراثية فى كفاءة الميتوكوندريات فـى تحويل الطاقة من النواتج النهائية لهضم الغذاء يرجع إلى الادنين ثلاثـى

الفوسفات (ATP) • وبالاضافة إلى ذلك لا يعـــرف على وجه الدقـة ما إذا كان التحكم فى نشاط الميتوكوندريات يعزى الى إلـ د نأ (mtDNA) الموجود فيها أو إلى الـ د نأ النووى • والهدف من هذه الدراسة هـو تحديد الخصائص الفسيولوجية والكيميحيوية التى قد تفسر الامكانيات الوراثية المختلفة فى أبقـــــار اللبـــــن •

وعلى ضوء ما سبق من دراسات ، فانه يمكن تفسير الاختلافات فـــى القدرات الوراثية لانتاج اللبن على أساس الاختلافات فى قدرات الحيوانـات على بناء (تخليق) الادنين ثلاثى الفوسفات (ATP) داخـــــل الميتوكوندريات فى سيتوبلازم خلايا الغدد اللبنيـة ـ تفسيرا جزئيـــا • ويتوفر فى الوقت الحالى سلالتان من الفئران تختلفان فى أنتاجهما للبـــن بنحو ٣٠٪ ، وتستخدمان كحيوانات تجارب نموذجية للابقار لتحقيـــق هدفيـــن معينيـــن :

١ـ تحديد قدرة وكفاءة بناء الادنين ثلاثى الفوسفات (ATP) بواسطة ميتوكوندريات خلايا الفئران المنتخبة لايٍّ من الانتاج العالـــــى أو المنخفض من اللبن •

٢ـ تحديد ما إذا كانت ميتوكوندريات خلايا الكبد والنسيج الدهـــنى والكرات الدموية البيض والصفائح الدموية فى الماشية لها نفس القدرات التخليقيـــة كما فى الغدد الثديية المدِرّة للبـــن •

فاذا وجد هذا التشابه بين الطُرُز المختلفة من الخلايا ، فان إجـراء هذا العمل يمكن أنْ يمتد إلى الماشية بسبب سهولة أخذ عينات الـــدم فى مقابل عينات أنسجة الثدى • وربما تفسر هذه الاختلافات فى وظائـــف الميتوكوندريات جزءا من الاختلافات التى تلاحظ فى إنتاج اللبـــن •

فاذا أمكن إدراك وجود فروق فى كفاءة تحويل الطاقة بين مجموعات الميتوكوندريات المختلفة ، فيمكن أن يتحسن الوضع فى صناعة الألبان عن طريق استغلال تلك الاختلافات . ولقد بين كثير من الباحثين أنّ الميتوكوندريات تنتقل فقط من الأمهات إلى النسل فى الأجيال المتعاقبة .

ومن الممكن أن يسمح اكتشاف (الميتوكوندريات المتفوقة) فى الاناث باضافة صفة انتخابية إلى تلك الصفات المتيسرة عادة لاختيار إناث متفوقة وراثيا . ويمكن أيضا إنتاج أجنّة متفوقة عن طريق حقن ميتوكوندريات متفوقة فى الأجنة ، أو بتبديل المادة النووية التى بها اختلافات فى وظائف الميتوكوندريات .

وتبلغ تكاليف التغذية فى منتجات الألبان نحو ٥٠٪ من اجمالى التكلفة ، واذا أمكن تحقيق زيادة قدرها ٥٪ فقط فى الكفاءة التحويلية للغذاء عن طريق استخدام أجنة متفوقة وراثيا ، فانه يمكن توفير ما يزيد على ٣ بليون دولار من تكاليف صناعة الألبان فى الولايات المتحدة الأمريكية .

والقوة الدافعة لتحريك هذا العمل هو استخدام المعالجة الوراثية فى الأجنة لتحقق عن طريقها حيوانات المزرعة تحسنا فى كفاءة ناتج الغذاء .

ويمكن أن نتوقع تحقيق نتائج عملية فقط بعد الفهم التام لوظائف الميتوكوندريات فى الغدد الثديية .

نشأة الأنظمـــة الوراثية اللانوويــــة

النظريات التى تفسر نشأة الأنظمة الوراثية للعضيات السيتوبلازميـــة :

هناك نظريتان أساسيتان تُفسّران كيفية نشأة العضيات السيتوبلازمة المحتوية على د ن أ فى خلايا ميزات النـــــوى :

(١) نظرية المعايشة الداخليـة : Endosymbiosis Theory

هذه النظرية وضعها العالم البيولوجى ألتمـان ١٨٩٠ (R.Altmann) وهى تقترح أن العضيات هى أنسال حديثة لكائنات شبيهة بالبكتريـات سكنت داخل خلايا بدائية وربما أيضا داخل خلايا ميزة النوى . ويُفْتَرض أنّ وجود متبادلات المنفعة الداخلية هذه يُعطى ميزة للخلايـــــا العائلة ،وبمرور الزمن تطورت إلى عُضَيّات الوقت الحــــالى .

ويدعّم هذه النظرية وجود طفرات واضحة لعضيات ربما تكون قــــد حدثت من خلال فيروسات أو عوامل أخرى معدية ،كذلك دخول بعـــــض البكتريات داخل خلايا ميزات النوى . وتؤكد الاكتشافات العلمية الحديثة وجود عشائر من الفيروسات وغيرها من الكائنات الدقيقة تنتقل من خــــلال سيتوبلازم بعض الخلايا ميزات النوى ،كما يتضح من الأمثلة التاليــــــة :

(أ) يأوى البراميسيوم بورساريا (<u>Paramecium bursaria</u>) عددا مـــن الطالحب الصغيرة ميزة النوى والتى لايمكن الاحتفاظ بها فى مزرعـــة إذا استبعدت من سيتوبلازم هذا الكائن . ويُعْتقد أن هذه الطحالـــب تأخذ بعض احتياجاتها المعيشية الضرورية من سيتوبلازم البراميســـوم ، وفى نفس الوقت تقوم هذه الطحالب بمِدّ عوائلها بنواتج عملية التمثيـــل الضوئى . ويبدو هذا التداخل بين نوعى الكائنين أنه مفيد تبادليــا

ويسمى ذلك "المعايشة الداخلية "Endosymbiosis" .

(ب) هناك حالات لاتتضح فيها منافع الطفيل ،كما هو الحال في الفيروس "سيجما" المعدى والذى يتوارث أميا لوجوده في سيتوبلازم بعض سلالات الدروسوفلا ،وكما سبق الذكر يجعل هذا الفيروس السلالات الحاملة له حساسة جدا لتركيزات من ثانى أكسيد الكربون لاتؤثر على الذباب العادى .

(جـ) بيّنت الدراسات أنّ البراميسيوم أوريليا (<u>P. aurelia</u>) يأوى فى سيتوبلازمه أكثر من ١٠ طُرُز مختلفة من الانواع البكتيرية سالبة جرام . وقد وجد أن "جسيمات كابا Kappa particles" —والتى سبق ذكرها فى جزء سابق من هذا الباب - هى بلازميدات فى هذه البكتريات . ويتطلب الاحتفاظ بكل نوع بكتيرى وجود جينات نووية خاصة فى الجهاز الوراثى الرئيسى لهذا الكائن . وتنتقل البكتريات من سلالة إلى أخرى أثناء التزاوج الخِلطى ،وكل نوع منها يُخلّق سموما مختلفة .

(٢) <u>نظرية البلازميد</u> : Plasmid Theory

وقد اقترحها كل من ماهلر و راف عام ١٩٧٥ . وتفترض هذه النظرية أنه فى مميزات النوى الاولية شبيهة البكتريات ،يُعتَقد أن بلازميدات معينة قد التقطت أولاً جينات خاصة بتخليق تـ . رن أ tRNA وجينات خاصة بتخليق ر . رن أ rRNA ،ثم أخذت أيضا جينات لتخليق بروتينات للتنفس من الكروموسوم الرئيسى ،ثم أصبحت هذه البلازميدات مرتبطة ومحاطة بواحد أو أكثر من الاغشية ،وبمرور الزمن تطوّرت إلى الهيئات الجينية الحالية للعضيات .

توارث التراكيب سالفة التكوين : Inheritance of Preformed Structures

سبق أن أشرنا إلى أنّ خصائص أسطح خلايا بعض الكائنات مميزات النوى قد تحتوى على معلومات وراثية يمكن أن تتحوّر بتأثير البيئة ولاتتوارث عن طريق الـ د ن أ النووى أو الـ د ن أ اللانووى المختص بتوارث العضيات. فقد ثبت وجود صفات وراثية يصعب أن تنسب نشأتها لكلا نوعى الـ د ن أ السابق ذكرهما . ومن ضمن الصفات والتى دُرست باستفاضة تلك التى تختص بغلاف البروتوزوا الهدبية كالبراميسيوم (الشكل ٤ — ١٤) فمن المعروف أن فتحة الفم والفجوة القابضة صفتان بارزتان لغلاف خلية البراميسيوم . ولقد بَيّن سونيبورن ومعاونوه أنّ هذه التراكيب الموجودة أو "سالفة التكوين preformulated" يمكنها أن تنتقل من جيل خلوى للذى يليه . مستقلة عن انتقال الجينات النووية والجينات السيتوبلازمية .

وأثناء التكاثر الجنسى العادى للبراميسيوم تتزاوج خلطيا خليتان ثم تنفصلان بعد ما تتبادلان النوى . وبالصدفة قد تدمج الافراد المتزاوجة وتكوّن أحيانا حيوانا مزدوجاً (a doublet) بمجموعتين من التراكيب الغلافية . وعندما تتكاثر هذه الافراد المزدوجة لاجنسيا بواسطة الميتوزى ،فإنها تعطى أفراداً مزدوجة.مما يوضح أنّ هذه الخاصية ذات أساس وراثى . وعندما تزوج أفراد البراميسيوم المزدوجة مع أفراد عادية (مفردة) ،فإنّ نسل الفرد المزدوج الذى سبق أن تزاوج خلطيا يُكوّن أفراداً مزدوجة ونسل الفرد المفرد والذى سبق تزاوجه خلطيا يكون أفراداً مفردة . وعندما تدخل هذه الانسال فى عملية تزاوج ذاتى (أو توجامى) فانها تحتفظ بخصائصها المزدوجة أو المفردة . والجينات النووية الواسمة التى تدخل فى التلقيحات بين أفراد مزدوجة وأفراد مفردة تسلك طبقا للنمط المتوقع للجنيات النووية .



شكل (٤ـ١٤) : لصورة للحيوان الأولى البراميسوم تترا أوريليـــا Paramecium tetraurelia والذى يحمل بداخله بكتريـــات متعايشـــة داخليا تسمى لامبــــدا.

(عن L.B. Preer, Bact. Rev., 38(1975))

الباب الخـــامس

تبدلات المادة الوراثية على المستوى الجزيئى

The Molecular Changes of Genetic Material

The Molecular basis of Mutation: الأساس الجزيئى للطفـــرة

تتكون الغالبية العظمى للمادة العضوية التى تتركب منها الكائنـــات الحية من بروتينات تركيبية • وعموما فإن هذه البروتينات معقدة وذوات أوزان جزيئية عالية • ولقد ثبت بما لايدع مجالا للشك أن البروتينات هى النواتـــج النهائية لفعل الجينات• كما أن البروتينات تتكون من سلاسل الببتيـــدات المتعددة،والأخيرة تتكون من تتابعات دقيقة غاية فى التنظيم من الأحمـــاض الأمينية • ولقد ثبت أن المعلومات الوراثية فى الدنا مختزنة على صـــورة روامز (شِفْرَاَت Codes) ثلاثية الأحرف ،كل واحدة منـها تُشَفِّـــــر لحمض أمينى معين فى سلاسل الببتيدات• وتتابع الأحماض الأمينيـــــة معروف لبعض من البروتينات البسيطة كالانسولين والهيموجلوبين ،وبعـــض أغلفة الفيروسات • ويتكون الهيموجلوبين الطبيعى (HbA) فى خلايا الـــدم الحمر للانسان من حوالى ١٤٧ حمضا أمينيا فى كل من السلسلتين ألفـــا (α) وبيتا (β) ،وأمكن تحديد تتابع الأحماض الأمينية فى السلسلـــة بيتا βbA كالآتـــــى :

	1 2 3 4 5 6 7 8 . . .	
عادى :	val-his-leu-thr-pro-glu-glu-lys ....etc	HbA
شاذ :	val-his-leu-thr-pro-val-glu-lys ....etc	Hbs
شاذ :	val-his-leu-thr-pro-lys-glu-lys ....etc	Hbc

وفى الأفراد المصابين بأنيميا الخلايا المنجلية Sickling ،تم

اكتشاف هيموجلوبين شاذ (Hbs) حيث تكون الخلايا تالفة نتيجة تأثير أليل طافر . والافراد الخليطون وراثيا لديهم أنيمية حادة ،بينما الافراد الاصيلون لهذا الجين يموتون .

والاختلاف الوحيد بين طرازى الهيموجلوبين Hbs و HbA ينحصر فى حمض أمينى واحد هو الفالين valine الموجود فى الهيموجلوبين Hbs والذى يحل محل الحمض الامينى "جلوتاميك أسيد Glutamic acid فى الهيموجلوبين HbA فى الموقع ٦ من السلسلة β . ويوجد هيموجلوبين آخر شاذ نتيجة لطفرة أخرى يعرف ب Hbc ، وفيه يكون الحمض الامينى جلوتامين الموجود فى الموقع رقم ٦ من الهيموجلوبين الطبيعى HbA قد استبدل بحمض أمينى آخر هو الليسين lysine فى الهيموجلوبين Hbc.

ومن المعروف أنّ الشفرة الوراثية للحمض الامينى جلوتامين تتكون من ثلاث قواعد نيتروجينية هى <u>GAA</u> (جوانين ـ أدنين ـ أدنين) ،فاذا افترضنا أنّ طفرة قد حدثت وأدّت إلى استبدال القاعدة الاولى من الادنين (A) فى الشفرة بالقاعدة U (يوراسيل) بحيث أصبحت الشفرة الثلاثية الجديدة مكونة من <u>GUA</u> ،فإنّ ذلك سوف يؤدى إلى إحلال الحمض الامينى "فالين" محل الحمض "جلوتامين" فى السلسلة الببتيدية . وكمثال آخر ،لو افترضنا أن القاعدة A (أدنين) قد حلت محل القاعدة G (جوانين) فى نفس الشفرة الوراثية السابق ذكرها ،فيترتب على ذلك أنّ الرامزة الجديدة سوف تصبح <u>AAA</u> (أدنين ـ أدنين ـ أدنين) ومن ثمّ فإنّ ذلك سوف يؤدى إلى إحلال الحمض الامينى ليسين (lysine) بدلا من الحمض الامينى جلوتامين فى الموقع رقم ٦ من السلسلة الببتيدية ،معطيا الهيموجلوبين Hbc.

يتضح من الامثلة السابقة أن تغيرا بسيطا فى التركيب الجزيئى يشمل نوتيدة واحدة فى الجين المسئول عن تخليق الهيموجلوبين ، سوف يـؤدى إلى تغير فى حمض أمينى واحد فى سلسلة البروتين المكونة من حوالى ١٤٧ حمضا أمينيا . هذا التغير البسيط فى جزئ الجين سوف يؤدى إلى تغير جوهرى فى مظهر (فينوتايب) صفة ما .

تقسيم الطفرات الجينية على أساس التغير الجزيئى فى الدنا :

بعد ما ثبت أن الجينات تتكون من تتابعات نوتيدية تشمل القواعد النيتروجينية الاربع: أ و ث ، ج وس (C , G , T , A) ، وأن متعددات الببتيدات هى نواتج الترجمة لسيسترون Cistron ما فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ من مقطع الدنا ، طبقا لروامز (شفرات) ثلاثية للاحماض الامينية ، فان جميع الطفرات الجينية Gene mutations (أو التغيرات على مستوى السيسترون Intracistronic changes) أمكن تحديدها فى إطار بسيط . وكان العالم فريز Freese (١٩٦١) هو أول من استهل تحديد هذا الاطار ، ثم تلاه العالم كريك Crick (١٩٦٣) الذى وسع وأفاض فى هذا المجال . ولما كانت الطفرة قابلة للانتقال عبر الاجيال ، وأن الميكانيكيات الخلوية مهيأة فقط لتخليق ودمج القواعد الاربع الطبيعية فى جزئ الدنا ، فان هذا الجزئ لايمكنه أن يحتوى على أية قواعد نوتيدية جديدة. وهذه الحقيقة تحدد التغيرات الطفرية الممكنة بدرجة كبيرة . ويمكن تلخيص هذه التغيرات فى النقاط التالية:

(أ) إحلال قاعدة محل أخرى فى موقع ما من جزئ الدنا Base substit.

(ب) إضافة أو حذف واحدة أو أكثر من القواعد داخل السيسترون Addition or deletion of one or more bases.

(جـ) إعادة ترتيب (أو انعكاس) القواعد داخل السيسترون

Rearrangement (inversion) of bases in a cistron.

و بالرغم من إمكانية حدوث الحالة الاخيرة (جـ) ولونظريا — إلا أنه لم تسجل لها حالات حتى الآن — لذلك فسوف نتناول النظامين (أ) و (ب) بشيء من التفصيل فيما يلي :

أولا : استبدالات القواعد : Base substitutions

وقد تسمى أحيانا طفرات الاحلال ، وهى تحدث نتيجة لاستبدال زوج من القواعد بزوج آخر مغاير للتتابع الأصلى . ويشمل استبدال القواعد طرازين من التغير :

(١) استبدالات متكافئة Transitions : وفيها تُستَبدل قاعدة بيورينية بقاعدة بيورينية أخرى ، أو قاعدة بريميدينية محل قاعدة بريميدينية أخرى كما يلي :

أ ← ج أو ج ← أ
ث ← س أو س ← ث
٤ إحتمالات

(٢) استبدالات غير متكافئة Transversions : وفيها تستبدل قاعدة بيورينية بأخرى بيراميدينية أو العكس ، كما يلي :

أ ⇄ س أو ج ⇄ س
أ ⇄ ث أو ج ⇄ ث
٨ إحتمالات

ولقد بينت دراسات تحديد تتابعات القواعد فى الدنا الطافر حدوث جميع هذه التغيرات السابق الاشارة إليها ، وقد أيدتها دراسات تحديد تتابعات الأحماض الأمينية فى البروتينات المقابلة .

وتؤدى إستبدالات القواعد إلى نوعين من الطفرات على المستوى الجينى هما :

(أ) الطفرات خاطئة المعـــنى : Mis-sense Mutations

ومثالها طفرات الهيموجلوبين السابق الاشارة إليها حيث يحل حمـض أمينى محل آخر فى السلسلة الببتيدية • ونظرا لمرونة الشفرة الوراثيـة — ففى بعض الأحيان قد لايؤدى الاستبدال القاعدى إلى إحلال حمـض أمينى جديد • وعموما فإنّ تأثيرات الطفرات خاطئة المعنى قد تختلف بالنسبة لنشاط الانزيم المتكون من السلسلة الببتيدية الناتجة • وغالبا ما تسمـى الطوافر بالنازة leaky — بمعنى أن الطوافر قد تنتج إنزيما أقـل كفاءة — أو أقل فى الكم عن ما ينتجه الأليل العادى • ومثل هذه الأليلات الطافرة تُظهر درجات من التنحى متباينة بالنسبة للأليل العـادى •

كما أنّ بعض الطوافـر التى من هذا الطراز قد تنتج إنزيمـات ذات كفاءة كاملة تحت مجموعة من الظروف البيئية ، أو أنها تكون غيـر كَفُوءة أو ضعيفة الكفاءة تحت مجموعة أخرى من الظروف • ومن أمثلة ذلـك طوافر الحساسية للحـرارة ts فى الدروسوفلا و إ •كولاى وغيـرها ، ويمكن تلخيص خصائص الطفرات خاطئة المعنى فى الآتـى :

١ — النزازيـة Leakiness (وقد سبق شرح معناهـا) •
٢ — التعبير المشروط Conditional expression.
٣ — تكوين ال CRM — وهى مواد بروتينية تحصينية غير فعالـة •
٤ — التكامل الداخلسيسترونى Intracistronic complementation.

(ب) الطفرات عديمة المعـنى : Nonsense Mutations

هذه الطفرات تؤدى إلى تكوين وحدات ثلاثية لا تشفر لأىّ حمض أمـينى ، والثلاثيـات messenger triplets الناتجة على مستوى جزىء الرم. رن أ هـى :

أ ـ الطفرة الكهرماني Amber وتتكون من التتابع UAG .
ب ـ الطفرة ترابي Ochre وتتكون من التتابع UAA .
ج ـ الطفرة براق Opal وتتكون من التتابع UGA .

وهذه الشفرات لا تترجم إلى أحماض أمينية وتؤدى إلى التوقف termination غير الناضج لنمو السلسلة الببتيدية للانزيم . وهى تنشأ من الرموز ذات المعنى sense codons نتيجة لاستبدال القواعد.
فعلى سبيل المثال ، إذا حدث استبدال متكافئ transition من G إلى A فى الموقع الثانى من الشفرة الثلاثية للحمض الأمينى تريبتوفان UGG فان الشفرة كهرمانى عديمة المعنى الناتجة سوف تكون UAG.

وتمثل الشفرات عديمة المعنى نسبة عالية من طفرات الاحلال . ويمكن تلخيص خصائصها فى النقاط التالية :

١ ـ جميعها تعطى أليلات خاملة Amorphs .
٢ ـ معظمها ذو تأثير سيّئ على مظهر الفرد (وقد تؤدى للموت) .
٣ ـ جميعها يفتقد صفة النزازية leakiness .
٤ ـ معظمها يفتقد خاصية التكامل الداخلسيسترونى .

ثانيا : إضافة أو حذف واحدة أو أكثر من القواعد :

Addition or deletion of one or **more bases.**

وتسمى أحيانا طفرات انحراف إطار الشفرة (Frameshift(sign mut.

أ ـ طفرات الاضافة : Addition mutations

وفيها ينحشر زوج واحد أو أكثر من القواعد فى أى مكان من التتابع الأصلى للجين . ويؤدى ذلك إلى انحراف أُطُر الشفرات frames .

الوراثية التى تبدأ من الشفرة التى حدثت بها الاضافة " (أنظر الشكل ٥ — ١) • فاذا كانت الاضافة تشمل واحداً أو اثنين من أزواج القواعد أدى ذلك الى تغير فى مجرى الجين gene stream ابتداء من الكودون الذى حدث فيه الطفور ، مما يترتب عليه تغيير فى تسلسل الاحماض الامينية فى السلسلة الببتيدية الناتجة •

ب — طفرات النقص: Deletion Mutations

وفيها يفقد زوج أو أكثر من القواعد داخل إحدى الشفرات من التتابع الاصلى ، وقد يؤدى ذلك أيضا إلى انحراف أُطُر الشفرات (أنظر الشكل ٥ — ١) أو قد يؤدى ذلك إلى فقد لحمض أمينى واحد أو أكثر من السلسلة الببتيدية المقابلة • ويتوقف الاثر المظهرى لهذه الطفرات على أهمية الاحماض الامينية المفقودة بالنسبة لفعالية البروتين (الانزيم مثلا) الناتج • والحالة الاولى (فَقْد واحد أو اثنين من أزواج القواعد) قد يترتب عليها تكوّن شفرات خاطئة المعنى mis-sense mutations فى بقية التتابع النوتيدى من السيسترون نتيجة لانحراف أُطُر الشفرات. فاذا حدث وتُرجمت هذه الشفرات الخاطئة الى ما يقابلها من الاحماض الامينية فى السلسلة الببتيدية المقابلة ، فإنّ ذلك سوف يؤدى إلى سلسلة من الاحماض الامينية كل حمض فيها خاطئ الموقع بالنسبة للسلسلة الطبيعية. أما الحالة الثانية (فقد كودون كامل — ثلاثى أو أكثر) ، فقد يترتب على ذلك فقد واحد أو أكثر من الاحماض الامينية فى السلسلة الببتيدية — أما بقية الشفرات فقد تترجم الى مايقابلها من الاحماض الصحيحة • وكما سبق يتوقف المظهر النهائى للبروتين الناتج على أهمية الحمض (أو الاحماض) الامينى المفقود • ويمكن أن تحدث طفرات انحراف أُطُر الشفرات تلقائيا أو تحت تأثير المطفرات mutagens صناعيا ، كما أن خصائصها تتوقف على

كون الطفرة خاطئة المعنى أو عديمة المعـــــنى .

جـ ـ طفرات الارتـــداد : Reversion Mutations

وهذه تحدث في الطفرات العكسية Back mutations
وهي تعني رجوع زوج من القواعد سبق تغيره إلى وضعه الطبيعي ، فمثـــلا
لـــو أن طفرة أمامية foreward mutation اتجهت من الطراز البـرى
إلى الاتجاه الطافر ، فإن الطفرة المرتدة تتجه من الطراز الطافر إلـــــى
الطراز البرى ، ويمكن توضيح ذلك على المستوى الجزيئي كالاتـــــى :

ادنين ←أماميـــة← جوانين ←عكسيـــة← ادنيـــن .

(طراز برى ←أماميـــــة→ طافـــر) .
←مرتـــــدة←

د ـ طفرات الكبت: Suppression Mutations

وهي غالبا ما تحاكي طفرات الارتداد . وتنتج طفرات الكبت عند مـــا
تحدث طفرة أخرى في موقع من السلسلة النوتيدية مختلف عن موقع الطفـــرة
الأولى مما يؤدي بطريقة ما إلى إخفاء أو كبت التعبير المظهري للطفـــرة
الأولى . وطبقا لذلك فإن طفرات الكبت سوف تُعطِي مظهرا كأنه مرتـــد ،
لكن في الحقيقة هو طافر مزدوج . وكلا طرازي الطفرة يمكن تمييزه مـــن
التلقيحات الوراثية ، أو بتحديد تتابعات القواعد في الجهاز الوراثي للكائن .
وطفرات الكبت من نوعين :
ـ كابتات بينجينية Intergenic(extragenic)suppressors وهذه
تحدث في موقع جيني آخر خلاف الموقع الطافـــر .
ـ كابتات داخلجينية (intragenic suppr.) وهذه تحدث في موقـع
نوتيدي مختلف داخل الجين (السيسترون) ذاته مما يُعيد ترجمة الاطـــار

طفرات موضعية

Original sequence	CAT CAT CAT CAT GTA GTA GTA GTA	تتابع اصلى .
Substitution	CAT CAT AT CAT GTA GTA TA GTA	احلال .
Addition	CAT CAT CAT CAT GTA GTA GTA GTA	اضافة .
Deletion	CAT CA CAT CAT GTA GT GTA GTA	نقص .
Reversion	CAT CAT CAT CAT GTA GTA GTA GTA	ارتداد .
Suppression	CAT CAT A CAT GTA GTA T GTA	كبت .

طفرات كروموسومية

Original chromosomes	كروموسومات اصلية .
Duplication	تكرار .
Deficiency	اقتضاب .
Inversion	انعكاس .
Translocation (reciprocal)	انتقال (متبادل) .
Polyploidy	تعدد كروموسومى مجموعى .
Aneuploidy	تعدد كروموسومى فردى .

شكل (٥ــ١) : رسم تخطيطى يوضح كيفية حدوث الطفــــرات الجينية على المستوى الجزيئى . فى النصف السفلى مــــن الشكل الطفرات التى تحدث على مستوى الكروموســـوم

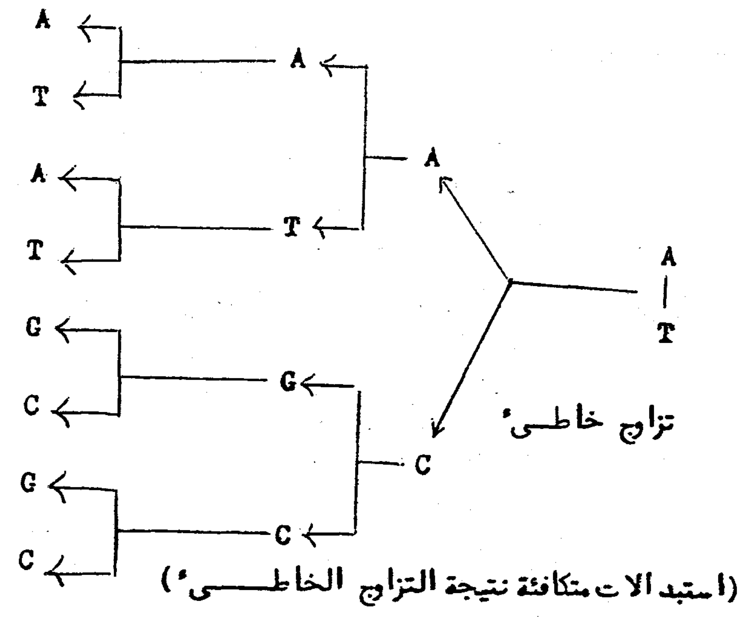
الشفرى مـــرة ثانيـــــة .

ميكانيكيات الطفرات الجينيـــة :

هناك مجموعة من الميكانيكيات البيولوجية التى تؤدى إلى حـــدوث الطفرات الجينية وهـــذه تشمـــل :

أولا : التغيرات المستديمة فى تركيب النوتيدة :

معظم المطفرات والملوثات والمواد المسرطنة Carcinogens ذات التأثير المباشر على الدنا قد تغير التركيب الكيميائى لاحدى النوتيدات داخل الجين ، حيث تكسبها خصائص تزاوج القواعد الخاصة بنوتيدة أخرى ، ويترتب على ذلك حدوث تزاوج خاطئ mispairing بيـــن قواعد سلسلتى الجزئ المكون للجين . وهذا التزاوج الخاطئ قد يـــؤدى إما إلى استبدالات متكافئة transitions أو استبدالات غيـــر متكافئة transversions . فإذا فرضنا أن مطفرا ما قد حوّر خصائص القاعدة "أدنين" إلى ما يجعلها تماثل خصائص تزاوج "الجوانين"، فانه عند تناسخ خيط الدنا الحامل للقاعدة (A) المحوّرة ، ســـوف تتزاوج هذه القاعدة ـ خطأً ـ مع الســـيتوسين ، وبذلك سوف يحمـــل الخيط الابنى التكاملى الناتج "سيتوسينا" فى هذا الموقع ، وعقب دورة واحدة من التناسخ ، سوف يتزاوج السيتوسين بصورة طبيعية مع الجوانين ، ومن ثـــم فان الخيط الحفيد الذى كان يجب أن يكون مطابقا للخيط الاصلى ســـوف يحمل "جوانينا" ، وكان من المفروض أن يحمل "أدنينا" كما يلـــى :



(استبدالات متكافئة نتيجة التزاوج الخاطــىء)

ويحدث نفس الشيء إذا حدث تزاوج خاطيء بين قاعدتين من نفس النــوع ـ مثلا بيورين ـ بيورين "أو" بريمدين ـ بريمدين "، مما يؤدى الى حـــدوث استبدالات غير متكافئـــــة .

ثانيا : الاصابات الاضافية المسببة للطفرة :

قد تحدث تغيرات فى تركيب النوتيدة لا تورث، حيث تكون بدون تأثيـــر سواء على تناسخ الـ د ن أ أو انتقال المعلومات الوراثية ـ مثل المركب ٧ ـ الكيل جوانين بدلا من القاعدة جوانين وهو نوتيدة مُحَوَّرة للجوانيـــن .

وهناك تغيرات مثبطة للقواعد ، وهذه تمنع انتقال الهيئة الجينيـــة الطافرة من الاب إلى نسله ، ومثال ذلك تلودة Alkylatien القاعدتين "أدنين "و السيتوسين " وهذه غالبا ما تؤدى إلى موت الخليـــة .

ثالثا : الاصابات السابقة للطفـــور Premutational lesions:

قد تتغير نوتيدة فردية أو مقطع من الـ د ن أ بدرجة كافية أو قد تَتْلَـف لدرجة أنها قد تسبب تثبيطا . وهذه الاصابة قد يحدث لها إلتئـــــام (Repair) بواسطة الخلية — قبل أو أثناء أو عقب التناسخ ،فـــاذا كان الالتئام بلا عيوب ،فإنّ المقطع يُسْتَبْدَل بنوتيدات مطابقة للتتابع الأصْلي تماما ولاتحدث طفرة أو تثبيط . أما إذا كان الالتئام خاطئا ،فلســـوف تنحشر نوتيدات غير مطابقة للتتابع الأصْلي فى الـ د ن أ مما يؤدى الى حـدوث طفـــــرة .

والخلاصة ، فإنّ الميكانيكيات الجزيئية التى تعمل على تَبَـدُّلات المادة الوراثية وتؤدى إلى حدوث الطفرات الجينية (تلقائيا أو نتيجة لفعـل المطفرات الصناعية (Mutagenesis) ويترتب عليها نشأة الأليـــــلات الجديدة للجين ،تشمـــــــل :

١ — تحوير تركيب الـ د ن أ أو قاعدة من قواعده الأربع .
٢ — إحلال قاعدة محـــل قـــاعدة أخـــرى .
٣ — انتقاص أو إضافة قاعدة واحدة فى أحد خيطى الـ د ن أ .
٤ — انتقاص أو إضافة زوج أوأكثر فى كلا خيطـــــى الـ د ن أ .
٥ — انعكاس تتابع أزواج النوتيدات داخل جـــزىء الـ د ن أ .

جميع هذه التغييرات تؤدى إلى تغير المعلومات الوراثية المختزنـة فى الـ د ن أ وتنتقل من خلال التناسخ لنسل الخلية ، أو بواسطة عمليـــة النسخ Transcription إلى الـ م رن أ (mRNA) ،ومن ثم تُتَرْجَــم إلى بروتين جديد ينعكس أثره على المظهر النهائى (الفينوتايب) فى صـورة طفـــــــرة .

إلتئام الد نأ : DNA-Repair

قد تتعرض المادة الوراثية (د نأ) فى الخلية إلى أنواع عديدة من التلف نوجزها فيما يلى :

(١) قد يتعرض الد نأ الى إنزيمات النيوكليز المتوطنة فى الخلية والتى تؤدى إلى شَقِّه أو كسره •

(٢) قد يحدث فيه كسرات أثناء ضَرّه فى رأس الفاج أو أثناء الانقسام الميتوزى •

(٣) قد تغيره المركبات الكيميائية المتوطنة داخل الخلية •

(٤) قد يتأثر بالحرارة أوالضوء ما فوق البنفسجى (UV)أوحتى العادى الاتى من الشمس•

(٥) قد تتفاعل معه الكيماويات البيئية الضارة •

وحتى بدون إضافة ضغط طفرى مُتَعَمّد ،فإنّ سلامة وحياة أىّ طاقم جينى تعتمد كلية على ميكانيكيات طبيعية لالتئام الد نأ DNA-repair فى داخل الخلية •

ويوجد ثلاثة أنظمة للالتئام :

أولا : إستعادة التنشيط ضوئيا : Phetereactivatien

تُحْدِث الاشعة ما فوق البنفسجية تأثيرات عديدة فى الد نأ ،وأحد هذه التأثيرات وأكثرها شيوعا هو تكوين روابط كيميائية ما بين جزيئى بريمدين متجاورين فى متعددة نوتيدات ،وبوجه خاص بين قاعدتى ثيمين (أنظر الشكل ٥ـ ٢)ويسمى الناتج "متبلمرة ثنائية الثيمين" (Thymine dimer) • وعندما تتكون هذه الثنائية فإنّ وضعها فى حلزون الد نأ يصبح غير مستقر لدرجة أن قاعدتى المتبلمرة الثنائية لاتقدران على تكوين روابط هيدروجينية مع قواعد البيورين المقابلة ،ويترتب على ذلك•

تشوّة انتظام الحلزون • ومثل هذه المتبلمرات الثنائية تكون مُثبِّطة أو مميتة مالم يحدث لها إلتئام.ويمكن لانزيم إستعادة التنشيط الضوئى أن يَـــرُدّ متبلمرة (ثَـثَ) إلى أحاديتى بلمرة فرديتين من الثيمين • ويترتب على ذلك إزالة الاصابة من خيط الدنأ الابوى • وسُمِّىَ الانزيم كذلك لانه بالرغم من أنه قادر على أن يرتبط مع المتبلمرة الثنائية فى الظلام — يجب أن يمتص طيفا من الضوء المرئى (وخاصة الاصفر والاحمر) قبل أن يكون قادرا على تكوين وحدات ثيمين أحادية البلمرة (الشكل ٥—٢) • وتوجد إنزيمات استعادة التنشيط ضوئيا فى كل من الكائنات بدائيات النوى وميزات النوى— ومن ضمنهـا الانسـان •

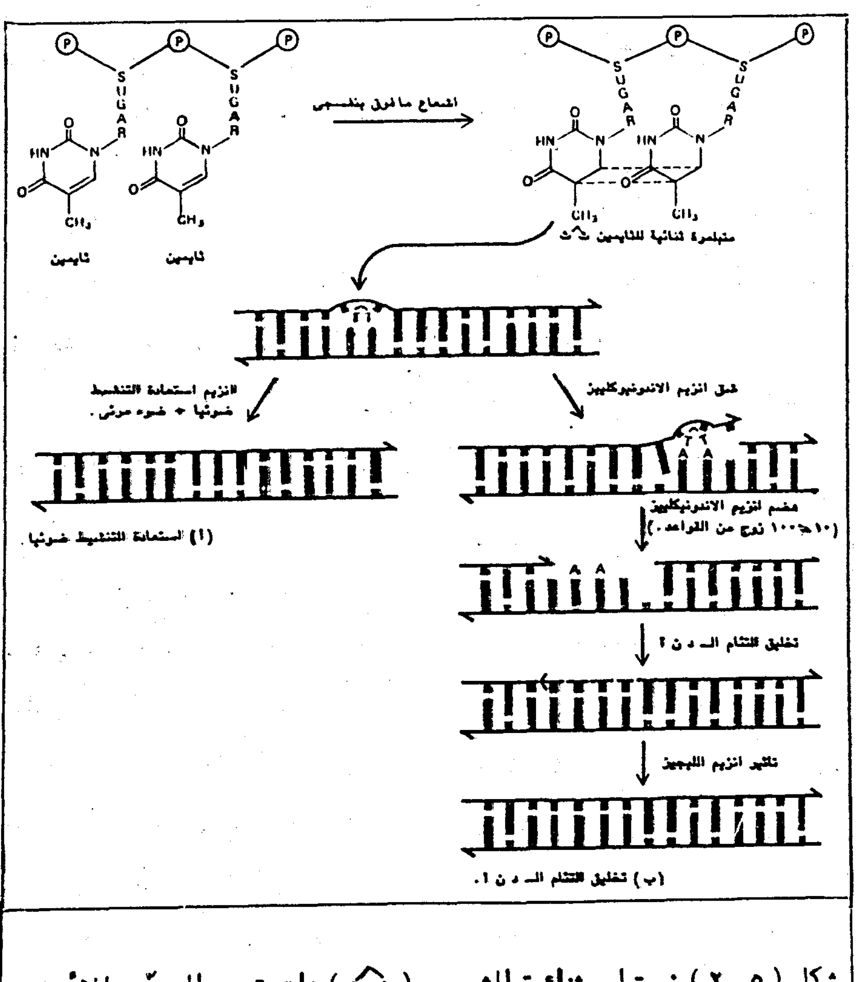
وبعض الآدميين الذين يعانون من المرض الوراثى المسمى "جفاف الجلد وتلونه **Xeroderma pigmentosum**" والذى يُكوِّن حساسية شديدة فى البشرة عند التعرض للأشعة ما فوق البنفسجية فى ضوء الشمس، يكون لديهم مستوى منخفض جدا من إنزيم إستعادة التنشيط الضوئى • ومن ثم ،فان ظاهرة استعادة التنشيط الضوئى تعتبر خط دفاع هام جدا ضد نوع رئيسى من تلف الدنأ الذى يتسبب بواسطة ضوء الشمس الشديد، ولو أنه محصور فقط فى إلتئام المتبلمرات الثنائية للبريميدينـات •

كما أن تَعَرُّض السيتوسين للأشعة ما فوق البنفسجية يسبب إدخال جزىء ماء فى حلقة السيتوسين (الرابطة الزوجية C=C ٥—٦) مما يترتب عليه تكون مركب غير ثابت ،ويمكن أن يزال جزىء الماء من المتبلمرة الاحادية غير الثابتة عند درجة حرارة الغرفـة •

ويلاحظ أن وحدات البيورين لاتتأثر بالاشعة ما فوق البنفسجيـة •

ثانيا : إلتئام الاستئصال : Excission Repair

من المعروف أن تناسخ الدنأ يتم فى وجود إنزيمات بلمرة خاصـة ،



شكل (٥ـ٢) : متبلمر ثنائية الثيمين (ث^ث) ناتجة من التعرّض للاشعـــة ما فوق البنفسجية ،ثم التئامها بواسطة إنزيم استعادة التنشيـــط ضوئيا (أ) ،أو بواسطـــة إلتئـــام الاستئصـــال (ب) .

وأن إنزيم بلمرة الـ د ن أ له نشاط إكسونيوكلييزى فى الاتجاه ٣َ ———← ٥َ يعمل على استبعاد أية نوتيدات تزاوجت خطأ مع القالب الأبوى — وذلك من الخيوط الشقيقة المُخَلّقة من جديد . ثم يعقب ذلك وضع النوتيدات الصحيحة فى الثغرات الناتجة من الاستبعاد . وتأخذ إنزيمات البلمرة تعليماتها من الخيط القالب للـ د ن أ . ويمكن أن يحدث تتابع أحداث مماثل فى الظلام عقب تكوين المتبلمرات الثنائية للثيمين : حيث تُستبعد المنطقة الحاوية للمتبلمرات الثنائية فى الكروموسوم بعوامل طبيعية (تُسْتَأصَل) من مزدوج الـ د ن أ ، ويوضع مكانها مقطع جديد من متعددة نوتيدات خالية من المتبلمرة الثنائية . وتتابع أحداث إلتئام الاستئصال هذا موضح تخطيطا فى الشكل (٥ — ٢) :

(١) يتعرف إنزيم إندونيوكلييز (إنزيم قطع بينى) على وجود المتبلمرة الثنائية بزحزحتها للحلزون ، فيحدث شَقّ فى الخيط المحتوى على المتبلمرة الثنائية فى مكان ما بجوارها .

(٢) يدخل إنزيم الاندونيوكلييز (إنزيم القطع البينى) فى الثّغرة التى خَلّقها الشق ثم يهضم — هذا الانزيم — جزء من خيط الـ د ن أ بما فيه المتبلمرة الثنائية فى الاتجاه ٣َ ———← ٥َ ، (حوالى ١٠ — ١٠٠ نوتيدة).

(٣) بعد الهضم ، يبادر إنزيم بلمرة د ن أ بتخليق مقطع بديل من الـ د ن أ مبتدئا من ٣َ — أيد المكشوف ومستمرا فى الاتجاه ٣َ ———← ٥َ وناسخا الخيط الصحيح بطريقة تكاملية .

(٤) عندما يصل مقطع الـ د ن أ المُخَلّق من جديد للطرف ٥َ — فو من الخيط المكسور والمهضوم ، فإنّ الطرفين يلتصقان بواسطة إنزيم الليجيز (DNA-ligase إنزيم لحام د ن أ) .

ولقد أمكن إثبات حدوث هذه الخطوات فى كلٍّ من الكائنات مميزات النوى وبدائيات النوى عن طريق ادراك حدوث تخليق مقطع د ن أ DNA فى

غير موعد ، باستخدام الثيمين ـ يد ٣ الموسوم إشعاعيا والتصوير الاشعاعي الذاتي (أوتوراديوجرافي Auteradiography).

وقد ثبت أن هذا الالتئام يحدث بكفاءة عالية ومؤثرة .

ثالثا : الالتئام الخاطئ عقب التناسخ :

بالرغم من خطوط الدفاع ذات الكفاءة والتي تتوفر بواسطة عمليتي استعادة التنشيط الضوئي والتئام الاستئصال ، تبقى بعض الاصابات العارضة دون التئام في الكروموسومات عند وقت تناسخ الـ د ن أ . وعندما يواجه جهاز التناسخ مثل هذه الاصابات فانه يتوقف قليلا ـ ويتخطى مكان الاصابة ، ويستأنف التخليق على الجانب الآخر على بعد حوالي ١٠ ٣ من القواعد ، ثم بعد ذلك يبادر بملئ ثغرة الخيط الابني الناتج . وخطوات هذه العملية موضحة تخطيطا في الشكل (٥ـ٣) :

(١) تضاف عدة قواعد مقابلة لمكان الاصابة ، بواسطة إنزيم تخليق د ن أ لايحتاج إلى قالب من د ن أ لأداء وظائفه (مثل إنزيم الدي أوكسي نيوكليو تيديل ترانسفريز الطرفي DNucleetidyl tstransferase حيث يضيف نوتيدات إلى نهاية السلاسل متعددة النوتيدات وغالبا ماتكون القواعد المضافة خاطئة .

(٢) يعمل نظام الالتئام الصحيح على استكمال بقية الخيط الابني .

(٣) تؤدي عملية الالتئام الخاطئ الى حدوث كل أنواع الطفرات ، مثل الاستبدالات المتكافئة والاستبدالات غير المتكافئة ، وكذلك إضافة ونقص القواعد .

وقد وُجِدَ أنّ الضوء مافوق البنفسجي والاشعة المؤينة (مثل اشعة جاما γ والاشعة السينية X) والعديد من المطفرات الكيماوية (مثل مواد القلودة Alkylating agents) جميعها يسبب إصابات

سابقة لعملية الطفور ،حيث يتم تحويلها إلى طفرات بواسطة عملية الالتئـــام الخاطئ في التناسخ التالى للد ن أ ، وسوف نتناول الطفرات الجينيـــة والكروموسومية كأحد مصادر التباين الأساسية فى الكائنات الحية فى باب لاحق.

تعريف الجين من وجهة نظر جزيئيـــة :

قبل اكتشاف تركيب المادة الوراثية ،كان الاعتقاد السائد بأن الجينـات عبارة عن وحدات فيزيائية منتظمة على شكل حبات فى الكروموسومات، ولكن عند ما عُرف تركيب الد ن أ ،أشار ذلك إلى أنّ الجين عبارة عن تتابع من القواعـد النوتيدية فى الكروموسوم ، وفى الاعتقاد القديم كان يفترض أن الجين هـــو وحدة التوارث بناء على معالـم ثـــلاث:

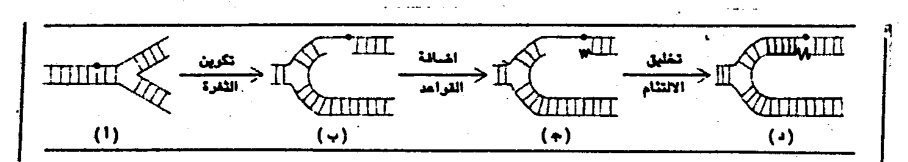
(١) أنه وحدة الوظيفة الفسيولوجية التى تؤدى إلى التعبير المظهـــرى.
(٢) أنه وحدة التركيب الوراثى التى لايمكن تقسيمها بواسطة العبـــور ،
(٣) أنه الوحدة التى يمكـن تغييرها بالطفـــــــرة ،

وقد تستعمل كل معلومة من هذه المعالم لتعريف عنصر وراثى مختلف، إلاّ أنّ التقدم الحديث فى البيولوجيا الجزيئية سرعـان ما غيّر المفهـــوم بالنسبة للجين ، والآن يُعَرّف الجين على أساس الوظيفة التى يؤديهـا ، فعلى سبيل المثال يُحَدّد التركيب الكلى لانزيم ما بواسطة مقطع من الد ن أ ، كما أنّ نظرية كل جين ينتج إنزيما (One gene-one enzyme hypoth.) قد تصلح لبعض وليس كل الانزيمات، وكمثال لذلك وجد أن إنزيم تخليـــق التريبتوفان Tryptophan synthetase يتكون من سلسلتى بروتيـن مختلفتى التركيب (A,B) ،وكل سلسلة نتجت بواسطة مقطع من الـــد ن أ مجاور للآخر ، وحاليا طُوّرت نظرية "جين لكل إنزيـم" إلى نظرية جين لكـل سلسلة ببتيدية (One gene-one polypeptide hypoth.) ، وهـذا المقطع من الد ن أ الذى يُحدِّد شفريا سلسلة ببتيدية فردية يطلق عليـــه

لفظ "سيسترون Cistren وهو مرادف لوحدة الوظيفـــــة ،
ومن ثم فيمكن أن يتكون الجين الواحد من أكثر من سيسترون واحـــــد ة .

ويوجد داخل كل سيسترون مواقع (Sites) يمكن أن تحدث بهـــا الطفرات.وكما سبق أن أشرنا في حالة جزئ الهيموجلوبين فان التغير فـــى نوتيدة واحدة قد أعطى مظهرا (فينوتايب) طافرا . ويسمى كل موقع مـــن هذه المواقع الطفرية بأسم الميوتن M u t e n وهو أصغر وحدة من المادة الوراثية لوحدث بـها تغير لاعطت تأثيرا مظهريا طافرا . ومن ثم فالميوتـــن قد يشمل نوتيدة واحدة أوعدد قليل من النوتيدات. ويؤدى الطفـــور على مستوى الميوتونات الى تكوين أليلات الجين الواحد Homealleles.

وحدوث طفرة داخل السيسترون قد تؤدى إلى تلف ناتجها ،إلاّ أنــه يمكن أن تنتج سيسترون طراز برى كاملة الوظيفة من خلال التوليفات الجديدة Recombinations بين اثنتين من السيسترونات التالفـــة المحتوية على طفرات في مواقع طفرية مختلفة . ويُعْتَقد أنّ أصغر وحدة مـــن المادة الوراثية قابلة لاعادة الترتيب وتسمى بالريكون R e c e n تشمل اثنتين من النوتيدات المتجاورة . ومن وجهة نظر الاتحادات الجديدة فـان الطرز المختلفة لجين داخل السيسترون الواحدة يطلق عليها الاليـــلات المتباينـــــة Heterealleles.



شكل (٥-٣) : مخطط لتوضيح ميكانيكية الالتئام الخاطئ عقب التناسخ — الدائرة السوداء تمثل إصابة غير ملتئمة ،الخط المتعرج يصور تخليق د ن أ عديم القالب.

(عن كتـــاب : الوراثة — جودنيـــف ١٩٨٤) .

مسائـــل وتماريـــن :

(١) وضح الاسباب التى من أجلها يجب أن تترك الكائنات المطفرة بالاشعة مافوق البنفســجية لمدة لاتقل عن ١٢ ساعة فى الظــلام .

(٢) وضح الاساس الجزيئى للطفرة ، ثم عرف المفهوم الحديث للجيـــن .

(٣) ماهى الميكانيكيات الجزيئية للطفرات الجينية ؟ وضح اجابتـــك تخطيطـــا مع ذكر أمثـــلة .

(٤) يتعرض الدنا فى الخلية لانواع عديدة من التلف ، ماهى أنواع هـذا التلف ؟ اشرح الانظمة المختلفة لالتئام المادة الوراثيـــــة .

الباب السادس

القواعد والقوانين الوراثية فى التوزيع الحـــر فى الكائنـــــات العليــــــا

مقدمـــــة :

تعتبر القواعد والقوانين الوراثية المندلية وطرق تحليلها من أقـــوى الاساليب العلمية فى الدراسات الوراثية ،فهى توضح كيفية اقتفاء أثـــر الصفات البيولوجية والتنبوء بسلوك صفات معينة فى الكائن الحى خـــلال الاجيال المتعاقبة ۰ وتمثل القواعد الاساسية التى وضعها الراهـــب النمساوى جريجور مندل G. Mendel (١٨٦٦) حجر الزاوية فى وضـــع قوانين التوارث الاولى ،وهى قانون الانعزال Law of Segregation (قانون مندل الاول) وقانون التوزيع الحر L. of Ind. assortment (قانون مندل الثانى) ،كما أفاد بذلك عالم الوراثة النمساوى تشيرمـــاك Tschermack عند الاحتفال بالعيد المئوى لميلاد مندل عام ١٩٢٢۰

القوانين المندلية من منظور السلوك الميوزى للكروموسومات:

من المعروف فى الكائنات ثنائية المجموعة الكروموسوميـــة Diploid أن كل خلية جسدية Somatic تحتوى على كروموسومين نظيرين لكـــل زوج من كروموسومات الهيئة الكروموسومية Chromosome complement الخاصة بنوع الكائن ۰ ويأتى أحد هذين الكروموسومين النظيرين مـــن الجاميطة المذكرة و الآخر من الجاميطة المؤنثة عند الاخصاب أثناء عمليــة جنسية ۰ ولقد ثبت من تجارب الارتباط الوراثى أن كل كروموسوم نظيـــر Homologous chromosome فى أى زوج يحتوى على نفس الجينات وبنفـــس

التنظيم الطولى . ويحتل كل جين موقعا locus ثابتا خاصا به على هذا الكروموسوم . وبينما تكون الجينات الموجودة فى مواقع محددة فى نفس زوج الكروموسوم بصورة عامة من نفس النوع لكل زوج من الجينات، إلا أنه ليس من الضرورى أن تكون هذه الجينات متطابقة وراثيا . فاذا فرضنا أنّ أحد كروموسومى أى زوج يحمل فى موقع ما الجين السائد A ، وهذا يسمى الاليل allele أو البديل السائد dominant لصفة ما ، فيحتمل أنّ الكروموسوم الاخر فى نفس الزوج يحمل فى نفس الموقع الجين المتنحى a (ويسمى هذا أليلا أو بديلا متنحيا recessive allele). ويشير ذلك أنّ الاليلين يمثلان صورتين مختلفتين للجين الواحد تتبادلان الوجود مع بعضهما وتشغلان نفس الموقع فى أيّ من الكروموسومين النظيرين . مما سبق يلاحظ أنّ أى فرد ثنائى المجموعة الكروموسومية يحتمل أن تحمل خلاياه بالنسبة لأى موقع جينى واحدا من الاحتمالات الثلاثة التالية :

(١) يحتمل أن يكون قد ورث الاليل A من أحد أبويه والاليل A الآخر من الابُ الثانى ، وفى هذه الحالة يكون التركيب الجينى (الجينوتايب genetype) له AA ، ويسمى هذا أصيل التركيب الوراثى (Homozygeus genetype).

(٢) يحتمل أن يكون قد ورث الاليل a من أحد أبويه والاليل a الاخر من الثانى ، وفى هذه الحالة يكون التركيب الجينى له aa، ويسمى هذا أيضا أصيل التركيب الوراثى .

(٣) يحتمل أن يكون قد ورث الاليل A من أحد الابوين و a من الابُ الثانى ، وفى هذه الحالة يكون التركيب الوراثى له Aa ويسمى هذا خليط التركيب الجينى Heterozygeus .

الشكل المظهرى (الفينوتايب) : Phenetype

ويقصد به التعبير المظهرى الخاص لجين معين ، مثل لون العين الاحمر أو الابيض ، والجناح الطويل أو المختزل فى الدروسوفلا ، أو العوز لحمض أمينى معين فى خلية بكتيرية إلى غير ذلك من الصفات ، وكل تعبير مظهرى لجين معين يسمى الصفة Character • وقد يستعمل لفظ الشكل المظهرى (الفينوتايب) كمصطلح شامل للاشارة إلى مجموع الصفات التى تميّز الكائن • وعموما فانّ الشكل المظهرى يشمل كل نواتج جينات الكائن الحى •

التركيب الوراثى (الجينوتايب) : Genotype

ويقصد به مجموع الجينات الموجودة فى كروموسوم أو كروموسومات الكائن الحى • وقد يُستعمل أحيانا للاشارة إلى زوج أو أزواج الجينات الخاصة بصفة أو مجموعة من صفات الكائن • وقد يستعمل لفظ الهيئة الجينية (جينوم Geneme) للدلالة على كل جينات الكائن التى تتحكم فى مظهره • ويلاحظ أنّ التركيب الجينى لكل كائن حى ثابت تقريبا طوال فترة حياته (منذ الاخصاب حتى الموت) ، بينما يتغيّر شكله المظهرى طبقا لحالة نموه وتأثيرات البيئة •

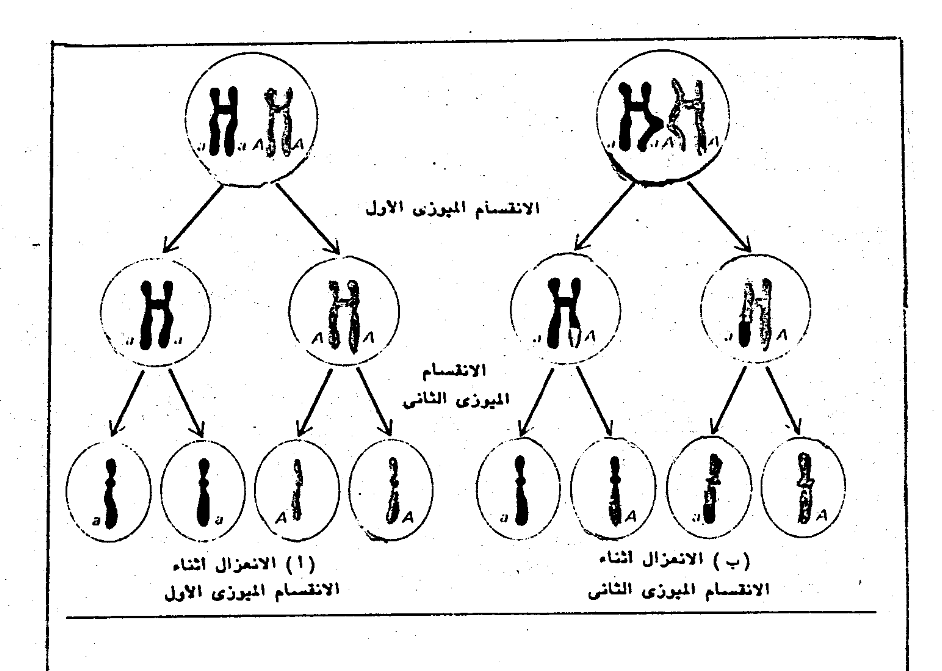
قانون الانعزال (قانون مندل الاوّل) :Law ef Segregatien

ينص قانون الانعزال والمعروف بقانون مندل الاوّل على " أنه عند ما يوجد أليلان لجين فى خلية يحدث بها عملية ميوزية فانهما ينعزلان عن بعضهما عند تكوين الجاميطات دون أى تغيير " • وفى هذه الحالة نجد أن خليتين أحاديتين من نواتج العملية الميوزية ستحملان نسخا من أحد الأليلات والخليتين الاخرتين ستحملان نُسَخاً من الأليل الاخر ، أى أنه سوف تنعزل

الاليلات بنسبة ١ : ١ ٠

ومن وجهة النظر الميوزية كما هو موضح في الشكل (٦ـ١) إذا فرضنا أن خلية ثنائية تحتوى على زوج من الكروموسومات أحدهما آت من الأم (اللون الرمادى) والآخر آت من الأب (اللون الأسود) ،فانه أثناء الانقسام الميوزى سوف تتراص كل وحدة كروموسومية ثنائية Bivalent طوليا أعلى وأسفل المستوى الاستوائى الأول للخلية ،ثم ينعزل كل كروموسوم عن نظيره أثناء الطور الانفصالى الأول ٠ فاذا كان أحد الكروموسومات الأمية يحمل الاليل A والكروموسوم النظير الأبوى يحمل الاليل a ،فعندما تدخل الخلايا الميوزية لهذا الفرد الخليط Aa في عملية الانقسام،فان انعزال الكروموسومات النظيرة سوف يؤدى الى أن الجاميطات الناتجة سوف تحمل إما A أو a وليس كليهما على الاطلاق ٠ وتسمى هذه الظاهرة بقاعدة الانعزال Segregation Rule ٠ وبالمثل ينعزل أليلى كل موقع جينى محمول في نفس الزوج الكروموسومى النظير ٠

ويشتثنى من القاعدة العامة الخاصة بانعزال الاليلات في الطور الانفصالى الأول الميوزى ما ينشأ في حالة حدوث كيازمات وعبور وراثى بين الكروموسومات النظيرة في الطور التمهيدى الأول ،فكما يتضح من الشكل (٦ـ١ب) ،نجد أنه عقب الانقسام الميوزى الأول ينتج كل من الكروموسومين الأبوى والأمى ولم تعد الكروماتيدتان الشقيقتان متطابقتين وراثيا لكل منهما ، حيث تحمل كروماتيدة التتابع الأصلى للجينات أمية المنشأ بما فيها الجين A ، بينما تحمل الاخرى مقطعا كروماتيديا شاملا الجين الأبوى المنشأ a ،ويحدث العكس بالنسبة للكروموسوم النظير ٠ ويلاحظ هنا أن الاليلين A و a مرتبطان مع بعضهما بسنترومير واحد مشترك لذا فهما يتحركان سويا ،ولا يمكنهما الانعزال إلاّ في الطور الانفصالى الثانى عقب انقسام السنترومير ٠



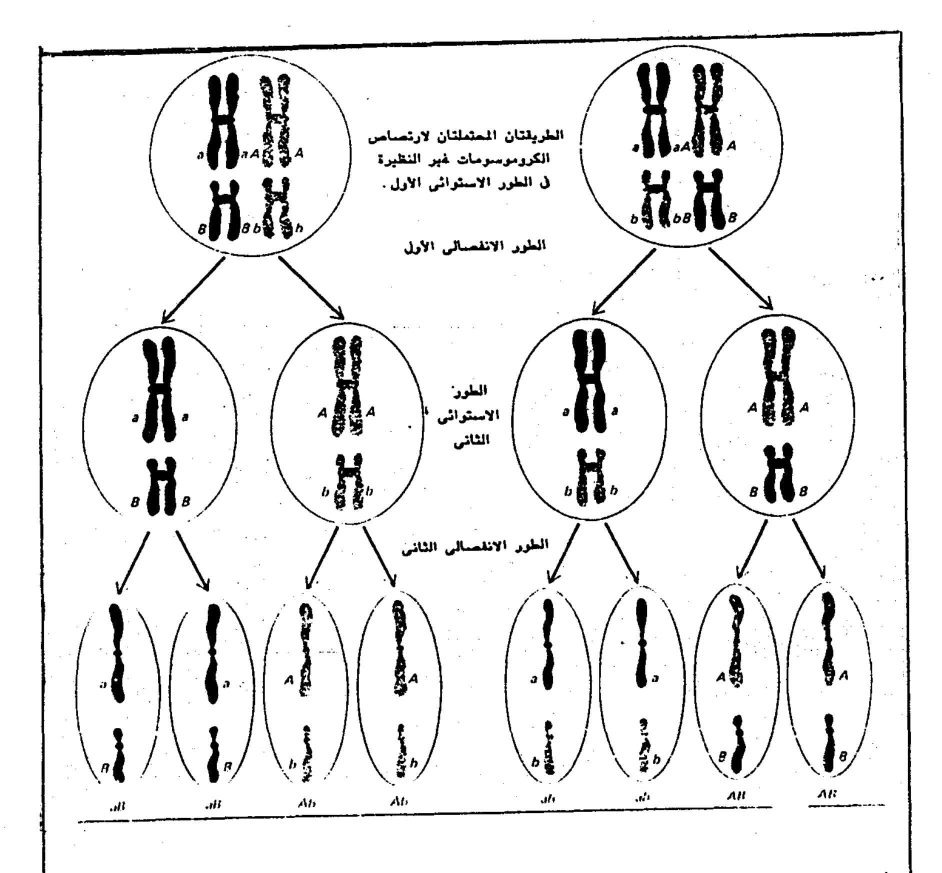
شكل (٦ـ١) : قانون الانعزال (قانون مندل الاول) موضح على أساس سلوك الكروموسومات أثناء العملية الميوزية .
(أ) فى حالة غياب العبور و (ب) فى حالة حدوث عبور ء الكروموسومات الابوية (أسود) الكروموسومات الامية (رمادى) .

مما سبق نلاحظ أن انعزال اللاليلات يمكن أن يحدث في أى من الانقسامين الميوزيين ، فالانعزال في الطور الانفصالى الأول (انعزال الانقسام الاول) يحدث في غياب العبور الوراثى ، بينما يحدث الانعزال في الطور الانفصالى الثانى (انعزال الانقسام الثانى) اذا حدث عبور وراثى في أى منطقة بين الموقع الوراثى للاليلين تحت الدراسة وموقع السنترومير (الشكل ٦ـ١ب).

قانون التوزيع الحر (قانون مندل الثانى) Law of Independent Assortment

ينص قانون التوزيع الحر والمعروف بقانون مندل الثانى على أن "أزواج اليلات الجينات المحمولة في كروموسومات مختلفة تنعزل مستقلة عن بعضها عند تكوين الجاميطات " ، فكما هو معروف فإن الازواج المختلفة من الكروموسومات النظيرة تُرَتّب نفسها أثناء الطور الاستوائى الاول بطريقة مستقلة وتبقى كذلك طول فترة العملية الميوزية ، ونتيجة لذلك فانّ الجينات المحمولة في الكروموسومات غير نظيرة يحدث لها توزيع مستقل أثناء العملية الميوزية ، وكما يتضح من الشكل (٦ـ٢) اذا فرضنا أن زوجا من الكروموسومات النظيرة يحمل الاليلات A و a ، وأن زوجا آخر في نفس الخلية يحمل زوجا آخر من الاليلات وليكن B و b ، وحيث أن كل زوج نظير يتوزع مستقلا عن الآخر ، فيكون الاحتمال هو أن نواتج العملية الميوزية في صورة جاميطات سوف تتكون بنسب ¼ab :¼aB:¼Ab:¼AB ويعرف ذلك بقاعدة التوزيع المستقل أو قانون مندل الثانى .

ويمكن الرجوع الى التفاصيل الكاملة لقانونى الانعزال والتوزيع الحر وتطبيقاتها في التحليلات الوراثية في مراجع الوراثة الكلاسيكية .



شكل (٦ـ٢) : قانون التوزيع الحر (قانون مندل الثانى) موضح على أساس سلوك الكروموسومات أثناء العملية الميوزية • (الكروموسومات الابوية باللون الاسود ،والامية باللون الرمادى (لاحظ التباين فى الجاميطات الاحادية الناتجة حيث بكل منها خليط من المواد الوراثية الابوية والامية •

مراجع مقترحة لمعرفة تفاصيل القوانين المندلية وتطبيقاتهـــــا :

(١) "الوراثـــة" — أورسولا جودينف (١٩٧٨) الطبعة العربيـــة
الدكتور / هاشم حسين ودكتور / أحمد الشرقاوى (١٩٨٢) .
(مؤسســة الأهرام — القاهـــرة).

(٢) علم الوراثة الحديث (١٩٨٦) — دكتور / هاشم حسين
(مطبعة كلية الطب البيطرى — جامعة القاهـــرة).

الباب السابـــــع

الارتباط والعبور والخرائـــــط الوراثيــــــة

Linkage , Cressingover and Genetic Maps

الدراسات الكلاسيكية عن الارتباط والعبور والاتحادات الجديدة :

كان ستون Sutton عام ١٩٠٣ هو أول من بين بوضوح العلاقــة بين السلوك الكروموسومى أثناء الانقسام الميوزى والانعزال والتوزيع المستقل للجينات ، وهى علاقة تكوّن الاساس لنظرية الكروموسومات للوراثـــــة .

ولقد أدرك ستون وغيره من علماء الوراثة ، أنّ جينا واحدا لا يمكنــه أن يناظر كروموسوما بأكمله . فمن الواضح أنّ الكائنات الحية المختلفة لابــد أن تحتوى على جينات أكثر كثيرا من الكروموسومات التى تحملها . ومن ثـم فقد اقترح أنّ كل كروموسوم لابد أن يحمل عددا كبيرا من الجينات تكـــون مرتبطة مع بعضها . وسرعان ما وُصِف الارتباط تجريبيا ، لكن وجد أنه ارتباط جزئى أو غير تام . فمثلا ، فى التجارب التى نشرت فى عام ١٩٠٥ بواسطــة بيتسون Bateson ، سوندرز Saunders وبنت Punnett ، واستمرت بواسطة الاخير ، حتى عام ١٩١٧ ، لقحت نباتات بسلة قرمزيــــة الازهار وذات حبوب لقاح طويلة مع نباتات حُمْر الازهار وذات حبوب لقـاح مستديرة ، ولم يظهر أى شئ غير عادى فى النسل فى الجيل الاول ، حيـث كان جميعه قرمزى الأزهار طويل حبوب اللقاح ، مما يدل على أن هاتيــن الصفتين سائدتان ، إلاّ أنهم عندما تركوا أفراد الجيل الاول الخليطة تلقّح نفسها ذاتيا ، ثم درسوا كلّ زوج من الاليلات على انفراد عن الآخـــر ، فكان سلوكه ينطبق مع النسبة المندلية ٣ : ١ .

إلاّ أنه عندما دُرِست الصفتان مع بعضهما ، لم تتحقق النسبة ٩ : ٣ : ٣ : ١ ، فمن بين ٦٩٥٢ نباتا فى الجيل الثانى كان ٤٨٣١

قرمزى الازهار طويل حبة اللقاح ،وكان ٣٩٠ نباتا قرمزى الازهار مستدير حبة اللقاح ،وكان ٣٩٣ نباتا أحمر الازهار طويل حبة اللقاح ،وكان ١٣٣٨ نباتا أحمر الازهار مستدير حبة اللقاح . وبمعنى آخر وجدوا أن التراكيب الابوية (قرمزى طويل وأحمر مستدير) قد ظهرت بتكرار أعلى من المتوقع على أساس التوزيع المستقل ،وأن الاتحادات الجديدة (قرمزى مستدير وأحمر طويل) قد ظهرت بنسب أقل من المتوقع أيضا . ولقد فسرت هذه النتائج على أساس وجود ارتباط جزئى بين الجينات التى شملتها الدراسة .

ولقد وضعت عدة نظريات لتفسير الارتباط الجزئى Partial linkage إلا أن التفسير الصحيح قدمه مورجان Morgan فى عام ١٩١١ نتيجة لدراساته المستفيضة فى الدروسوفلا .

تلقيحات مورجان وخريطة ستيرتيفانت:

عزل مورجان ذبابتين مذكرتين تحملان طوافر تلقائية . إحداهما بيضاء العيون والاخرى مُصَغّرة الجناح miniature ثم لقح هذا الذباب مع إناث برية ،فكان الجيل الاول جميعه بَرّى الطراز ،وفى الجيل الثانى سلكت الصفتان الطافرتان سلوكا مرتبطا بالجنس ،ومن ثم فقد استنتج مورجان أن الجينين (أبيض w) و (مُصَغّر m) محمولان فى الكروموسوم X . ولقد ركّبَ مورجان ،باستعمال تلقيحات مناسبة ،سلالة من الذباب الاناث أصيلة لكل من w ، m ثم قام بتلقيح هذه الاناث بيضَ العيون مُصَغّرة الجناح الاصيلة مع ذكور برية الطراز ،فكانت جميع ذكور الجيل الاول بيضَ العيون مُصَغّرة الاجنحة ، وكانت جميع الاناث برية الطراز (وخليطة التركيب الوراثى) ،كما هو متوقع بالنسبة للصفات المرتبطة بالجنس . ولما ترك مورجان ذكور واناث الجيل الاول تلقح بعضها ،حصل فى الجيل الثانى على تكرارات لفئات الاتحادات الابوية الاصيلة (أحمر

العيون طويل الجناح وأبيض العيون مُصَغّر الجناح) بنسبة أعلى بكثير مما هو متوقع على أساس قانون مندل للتوزيع المستقل ، بينما كانت تكرارات الاتحادات الوراثية الجديدة "أبيض العيون طويل الجناح وأحمر العيون مُصغّر الجناح" أقل كثيرا عمّا هو متوقع . ولقد فسّر مورجان الزيادة الجوهرية فى تكرارات الاشكال المظهرية بالاتحادات الابوية على أساس وجود الارتباط بين الجينات ، إلاّ أنّ هذا الارتباط كان جزئيا ، حيث بلغت نسبة الاتحادات الجديدة $\frac{٩٠٠}{٢٤٤١}$ = ٣٦٩ر٠ أى ٩ر٣٦٪ .

ولقد وسع مورجان تجاربه وأدخل فيها جينا ثالثا متنحيا وهو أصفر الجسم y (yellow) ، فكانت نسبة الاتحادات الجديدة بين أصفر الجسم y وأبيض العيون حوالى ٣ر١٪ . وفسّر مورجان نتائجه على أساس نظرية يانسين Jansen (١٩٠٩) التى تقترح أنّ الكيازمات تمثل مواقع للتبادل المادى بين الكروموسومات الامية والابوية النظيرة — لذلك اقترح مورجان ، أنّ الاتباط الجزئى يحدث عندما يكون جينان فى نفس الكروموسوم مبتعدان عن بعضهما بمسافة طبيعية تسمح بحدوث كيازما واحدة بينهما . ولقد أطلق لفظ "عبور" "Crossingover" على هذه العملية . ولتفسير ظهور النسبة ٣ر٣٦٪ من النسل باتحادات جديدة بين w و m والنسبة ٣ر١٪ بين w و y فقد اقترح مورجان أن الجينين w و m بعيدان عن بعضهما نسبيا على كروموسوم X ، لذلك كانت لديهما فرصة أكبر نسبيا لكى ينفصلا عن بعضهما بواسطة العبور ، بينما كان w و y قريبين من بعضهما وفرصة العبور بينهما أقل .

ويعتبر ستيرتيفانت Sturtevant (١٩١١) أول من استخدم تكرارات الاتحادات الجديدة فى النسل فى رسم الخرائط الكروموسومية فى الدروسوفلا .

الاتحادات الجديدة بين الجينات المرتبطة فى مميزات النوى :

الارتبـاط Linkage: عندما يقع جينان أو أكثر فى نفس الكروموسوم يقـال أنهما مرتبطان وراثيا genetically linked. وقد يكونا مرتبطين علـى أحد الاوتوسومات أو على كروموسوم الجنس . أما الجينات المحمولة فـى كروموسومات مختلفة فإنّها تتوزّع مستقلة عن بعضها فى الجاميطات . وتميـل الجينات المحمولة فى نفس الكروموسوم للبقاء مع بعضها أثناء تكوين الجاميطـات . وبناء على ذلك فإنّ نتائج التلقيحات الاختبارية لافراد ثنائية الهجيـن dihybrid تكون مختلفة ويتوقف ذلك على كون الجينات مرتبطة أو محمولة فى كروموسومات مختلفة ،كما يتضح من الامثلة التاليـة :

أولا :

الجينات المحمولة فى كروموسومـات مختلفة تتوزع مستقلة عن بعضها ، وتعطى فى التلقيحات الاختبارية النسبـة ١ : ١ : ١ : ١

الاباء : AaBb x aabb

الجاميطات: AB , Ab , aB , ab ab

الجيل الاول : $\frac{1}{4}$ AaBb : $\frac{1}{4}$ Aabb : $\frac{1}{4}$ aaBb : $\frac{1}{4}$ aabb

ثانيا : الجينات المرتبطة لا تتوزع توزيعا حرا وتميل للبقاء مع بعضها بنفـس التوافيق الموجودة فى الاباء . وفى المثال الفرضى التالى فإنّ الجينات التى تقع علـى يسار الخط المائل (/) تقع على نفس الكروموسوم والتى تقع على يمين الخـط المائل ،تقع على الكروموسوم النظيـر .

الاباء : AB / ab x ab / ab

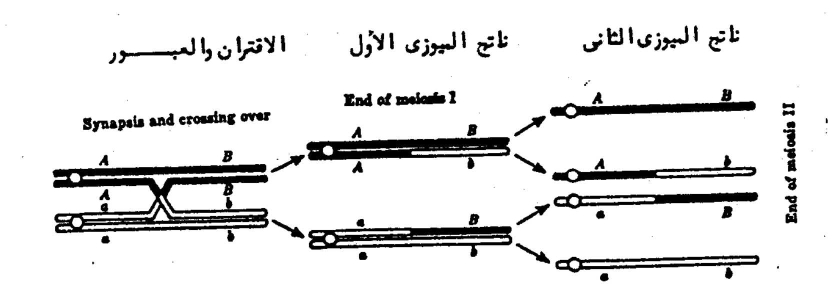
الجاميطات: AB , ab ab

الجيل الاول : $\frac{1}{2}$ AB/ab : $\frac{1}{2}$ ab/ab

ويمكن الاستدلال على وجود ارتباط بين جينين إذا ظهرت انحرافات جوهرية عن النسبة ١ : ١ : ١ : ١ المتوقعة في النسل الناتج من التقليح الاختبارى للهجين الثنائى للجينين . ولاتظل الجينات المرتبطة باقية مع بعضها بصورة مطلقة (إلا في بعض الحالات التى سيأتى ذكرها فيما بعد) وذلك لأن الكروماتيدات غير الشقيقة non-sister chrematids الموجودة في الوحدات الثنائية المتزاوجة في الطور التمهيدى الأول من الانقسام الميوزى قد تتبادل بعض الأجزاء مع بعضها . ونقط التبادل الوراثى هذه (الكيازمات) ينتج عنها تكوين جاميطات ذات توليفات وراثية جديدة recembinant gametes خلال عملية العبور الوراثى .

العبور Cressingever :

في أثناء الطور التمهيدى للانقسام الميوزى الأول تتزاوج الكروموسومات النظيرة (كل مكون من كروماتيدتين شقيقتين) ويحدث العبور الوراثى بين كروماتيدتين غير شقيقتين . وهذا العبور يشمل انفصام والتحام لاثنتين فقط من الكروماتيدات غير الشقيقة عند نقطة واحدة من الكروموسوم .
والرسم التالى يوضح عملية عبور في منطقة بين الموقعين A و B المرتبطين :



ويلاحظ من الرسم السابق أن اثنين فقط من نواتج الانقسام الميـــوزى (AB, ab) تكون فيها الجينات المرتبطة بنفس الطريقة التى كانت بهـا هذه الجينات مرتبطة فى الكروموسومات الأبوية • وهذه النواتج تنتج مـــن الكروماتيدات التى لم تشترك فى عملية العبور ،ويطلق عليها اسم الكروماتيـدات اللاعبورية noncrossovers أو الكروماتيدات الأبويـــة parental types • أما النواتج الأخَر لعملية الانقسام الميوزى (Ab , aB) والتى شملها العبور فتنتج كروماتيدات ذات توافيق جينيـة جديدة وتسمى الاتحادات الجديدة recombinants ،أو الكروماتيـدات العبورية crossover types • وتظهر أليلات الهُجَن الثنائية لموقعيـن مرتبطين باحدى صورتين حسب طريقة دخولهما التلقيـــح :

أ ـ اذا كان الأليلان السائدان فى كروموسوم واحد ،والأليلان المتنحيان فـى الكروموسوم النظير (AB / ab) فان العلاقات الارتباطية تسمى ارتباطـا فى الوضع التجاذبى linkage in coupling phase:

آباء بالوضع التجاذبى : AB / ab

اتحادات أبويـــة : AB , ab اتحادات جديدة : Ab , aB

ب ـ اذا كان أحد الأليلين السائدين وأحد الأليلين المتنحيين يقعان فـى كروموسوم واحد والأليل السائد الآخر والأليل المتنحى يقعان فى الكروموسوم النظير (Ab/aB) سميت علاقات الارتباط هنا ارتباطا فى الوضع التنافـرى linkage in repulsion phase:

آباء بالوضع التنافرى : Ab / aB

جاميطات لاعبوريـــة : Ab , aB

جاميطات عبوريـــة : AB , ab

العلاقة بين الكيازمات والجاميطات الابوية والعبورية :

إنّ احتمال حدوث الكيازمات مهم فى تقدير نسب الجاميطات الابوية والجاميطات ذات الاتحادات الجديدة المتوقعة لتركيب وراثى معين . فالنسبة المئوية للجاميطات العبورية المتكونة لأى تركيب وراثى هى انعكاس مباشر لعدد الكيازمات بين الجينات تحت الدراسة . ولا يمكن اكتشاف الاتحادات الجديدة بين أى جينين مرتبطين مالم يحدث بينهما عبور ،وعندما تتكون كيازما بين موقعى جينين مرتبطين ،فإنّ نصف نواتج الانقسام الميوزى فقط ستكون عبورية، لذلك فان نسبة الكيازمات المتكونة يساوى ضعف نسبة الجاميطات العبورية ؛ النسبة المئوية للكيازمات= ٢ x النسبة المئوية للجاميطات العبورية ،أوالنسبة المئوية للجاميطات العبورية = $\frac{1}{2}$ النسبة للكيازمات المتكونة .

مثال (١) :

بغرض وقوع كيازما واحدة بين موقعى جينين B و A فى ٣٠٪ من أفراد بالتركيب الوراثى AB/ab ،فان ١٥٪ فقط من الجاميطات الناتجة ستكون ذات اتحادات جينية جديدة aB و Ab،و ٨٥٪ ستكون بالتراكيب الابوية (ab , AB) .

مثال (٢) :

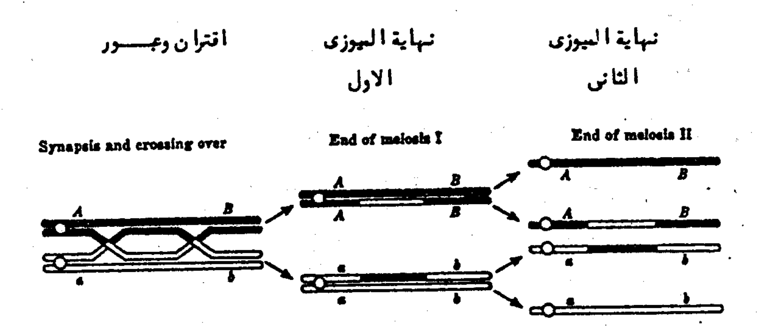
بغرض أن النسل الناتج من التلقيح الاختبارى Ab/aB x ab/ab كان مكونا من النسب الاتية : ٤٠٪ Ab/ab و ٤٠٪ aB/ab ١٠٪ AB/ab و ١٠٪ ab/ab .

لذلك فان التراكيب الوراثية ab/ab و AB/ab ستكون ناتجة من جاميطات عبورية . إذن ٢٠٪ من كل جاميطات الهجين الثنائى ستكون عبورية ،وهذا

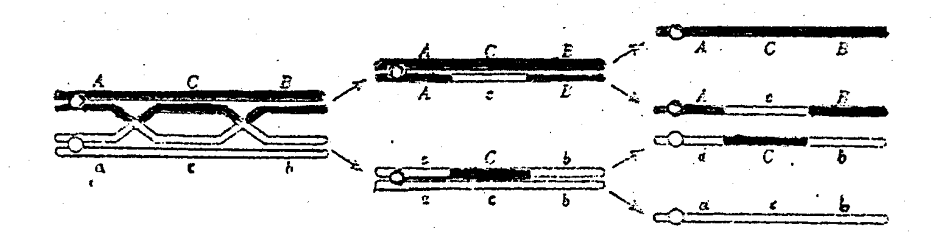
يعنى أن الكيازمات حدثت بين الموقعين تحت الدراسة فى ٤٠٪ من الافراد .

العَبر المتعددة : Multiple crossovers

إذا حدث عبوران (عبور مزدوج double crossover) بين موقعين وراثيين ، فإنّ النواتج ، كما يمكن ادراكها من خلال الاشكال المظهرية للنسل ستكون أبوية فقط ، كما يتضح من الرسم التالى :



ولادراك حدوث عبور مزدوج لابد من استعمال موقع جينى وليكن (C) بين الجينين الطرفيين ، كما يظهر من الرسم التالى :



فاذا كان هناك درجة احتمال معينة لحدوث عبور فردى بين الموقعين A و C ، ودرجة احتمال أخرى مستقلة لحدوث عبور فردى بين الموقعين C و B ، فان احتمال حدوث العبور المزدوج double crossingover يكون حاصل

ضرب احتمالى حدوث العبورين الفرديين المستقلين ،كما يتضح من المثال التالى:

إذا حدث عبوربين الموقعين A و C فى ٢٠٪ من الخلايا ("رباعية الكروماتيدات) وبين الموقعين B و C فى ١٠٪ من هذه الخلايا فى فرد ما له التركيب الوراثى ABC/abc ،فان ٢٪ (=٢ر٠ × ١ر٠) من الجاميطات نتوقع أن تكون من النوع مزدوج العبور double cressevers وهى AcB و aCb . والاعداد الفردية من العبور فى كروماتيدتين (أى ١ ، ٣ ، ٥ ..... الخ) بين موقعى جينين تعطى اتحادات جديدة يمكن ادراكها بين الجينات الطرفية ،ولكن الاعداد الزوجية من العبور (٢ ، ٤ ، ٦ ...الخ) لاتعطى اتحادات جديدة بين هذين الموقعين الطرفيين ،وذلك لأن العبور المزدوج يلغى أثر العبور المفرد .

حدود الاتحادات الجديدة Limits of Recombinant Gametes

إذا وجد جينان متباعدان على كروموسوم لدرجة تسمح باحتمال حدوث كيازمات بينهما بنسبة ١٠٠٪ ،فإن ٥٠٪ من الجاميطات الناتجة ستكون أبوية التركيب الوراثى (لاعبورية) و ٥٠٪ ستكون ذات اتحادات جديدة (عبورية). وعندما تلقح مثل هذه الافراد ثنائية الهجين dihybrid اختباريا ،فانه من المتوقع أن تعطى نسلا يتفق مع النسبة ١:١:١:١ كما هو متوقع بالنسبة للجينات المحمولة فى كروموسومات مختلفة (مستقلة) . مما سبق يمكن القول أن نسبة الاتحادات الجدية بين أى جينين مرتبطين لا يمكن أن تزيد عن ٥٠٪ مهما زادت المسافة بينهما ،ومهما كان عدد أحداث العبور بينهما .

توقيع الخرائط الوراثية فى مميزات النوى Genetic Mapping in Eukaryotes

المسافة الخريطية : إن الأماكن التى تقع فيها الجينات فى الكروموسوم

(المواقع) تكون مرتبة فى تنظيم طولى مثلما تترتب حبّات العقد فى خيط .ويوجد عنصران أساسيان عند عمل الخرائط الوراثية :

(أ) تحديد الترتيب الطولى الذى تنتظم فيه الوحدات الوراثية بالنسبة لبعضها البعض (أى تنظيم الجينات) .

(ب) تعيين المسافات النسبية بين الوحدات الوراثية (المسافات الجينية) .

إنّ وحدة المسافة التى لها أهم استعمال عند التنبوء بنتائج أنواع معينة من التلقيحات ،هى عبارة عن تعبير عن درجة الاحتمال التى قد يحدث بها العبور بين الجينين تحت الدراسة ، لذلك فإنّ وحدة المسافة الخريطية (أو السنتيمورجان Centimergan) تكون معادلة لـ ١٪ عبور . وفيما يلى بعض الأمثلة لتوضيح ذلك :

مثال رقم ١ :

إذا أعطى التركيب الوراثى Ab/aB ٨٪ لكل نوع من الجاميطات العبورية AB و ab ، فان المسافة بين الجينين A و B تقدر بـ ١٦ وحدة خريطية .

مثال رقم ٢ :

إذا كانت المسافة الخريطية بين الموقعين B وC هى ١٢ وحدة عبورية ، فان ١٢٪ من الجاميطات التى يُكوِّنها التركيب الوراثى الخليط تكون من النوع العبورى ،أى ٦٪ Bc و ٦٪ bC .

وكل كيازما تعطى نواتج عبورية بنسبة ٥٠٪ ، و ٥٠٪ عبور يعادل ٥٠ وحدة خريطية ، فاذا عرف متوسط عدد الكيازمات لأى زوج من الكروموسومات فإنّ الطول الخريطى الكلى لمثل هذه المجموعة الارتباطية يمكن حسابه كالآتى :

الطول الكلى = متوسط عدد الكيازمات x ٥٠ .

التلقيح الاختبارى ذو النقطتين : Two-Point Testcross

إنّ أسهل طريقة لادراك وجود الجاميطات العبورية فى هجين ثنائى تكون من خلال نسل التلقيح الاختبارى . فاذا فرضنا أننا لقحنا اختباريا أفرادا ثنائية الهجين بالتركيب التجاذبى (AC / ac)coupling ووجدنا بين الاشكال المظهرية للنسل ٣٧٪ يحمل الجينين السائدين ،٣٧٪ يحمل الجينين المتنحيين ،١٣٪ يحمل الجين السائد للموقع الاول والجين المتنحى للموقع الثانى ،و١٣٪ يحمل الجين السائد للموقع الثانى والجين المتنحى للموقع الاول ،فمن الواضح أنّ الفئتين الاخرتين (وهما وراثيا aC/aC,Ac/ac) تدنتجتا بواسطة الجاميطات العبورية من الاب الثنائى الهجين . ومن ثمّ فإنّ ٢٦٪ من كل الجاميطات (١٣ + ١٣) كانت من النوع العبورى ،وأن المسافة بين الموقعين A و C تقدر بـ ٢٦ وحدة خريطية .

التلقيح الاختبارى ذو الثلاث نقط : Three-Point Testcross

عادةً لايحدث العبور المزدوج بين جينات تبعد عن بعضها أقل من خمس وحدات خريطية . وبالنسبة للجينات الاكثر بُعداً يتّضح باستعمال جين واسم بين الجينين الآخرين حتى يمكن ادراك حدوث العبور المزدوج . فاذا فرضنا أننا لقحنا اختباريا أفراداً ثلاثية الهجين Trihybrid ذات التركيب الوراثى ABC/abc مع المتنحى الثلاثى abc/abc ووجدنا فى النسل الفئات التالية :

1% AbC/abc	4 % ABc/abc	9 % Abc/abc	36 % ABC/abc
1% aBc/abc	4 % abC/abc	9 % aBC/abc	36 % abc/abc
2% مزدوج العبور	8% مفرد العبور منطقة ثانية	18 % مفرد العبور منطقة أولى	72 % تراكيب أبوية

ويلاحظ أن المجموع الكلى لنسب النسل لابد وأن يساوى ١٠٠٪ ، وفئتى كل تركيب يفترض نظريا أنها متساوية ، ولكن فى الواقع قد تختلفان ولكن بصورة غير جوهرية .

ولايجاد المسافة بين A — B ، يجب أن تحصى كل الافراد العبورية (مفردة ومزدوجة) التى نتجت من العبور فى المنطقة الاولى . وهى فى حالتنا هذه = ١٨٪ + ٢٪ = ٢٠٪ أو ٢٠ وحدة خريطية بين المتوقعين A و B . ولايجاد المسافة بين C — B ، يجب ثانية أن تُحْصَى جميع الافراد العبورية (مفردة ومزدوجة) التى نتجت من العبور فى المنطقة الثانية ، وهى فى حالتنا هذه = ٨٪ + ٢٪ = ١٠٪ أو ١٠ وحدات خريطية بين الموقعين B و C . من ذلك يمكن القول بأنّ المسافة بين C — A هى ٣٠ وحدة خريطية عندما ندرك وجود الافراد العبورية المزدوجة فى تجارب الارتباط ثلاثية النقط ، ٢٦ وحدة خريطية عندما لايمكن ادراك الافراد مزدوجة العبور فى تجارب الارتباط ذات النقطتين .

وبدون الجين الوسطى الواسم (B) ، فإنّ الافراد مزدوجة العبور تظهر كأنها تراكيب أبوية ، ومن ثمّ يكون البعد الخريطى الحقيقى أقل من الواقع . وفى هذه الحالة تظهر ال ٢٪ عبور مزدوج مع ال ٧٢٪ تراكيب أبوية ، أى تصبح التراكيب الابوية فى مجموعها ٧٤٪ وتكون الاتحادات الجديدة ٢٦٪ ، لذلك فلأى ثلاثة جينات مرتبطة معروف المسافات بينها ، فإنّ نسبة الافراد العبورية التى يمكن ادراكها (أى نسبة الاتحادات الجديدة) بين الموقعين الطرفين A و C ، عندما يكون الموقع الوسطى B غائبا تكون مساوية لـ : (نسبة العبوريين B و A) + (نسبة العبوريين C و B) — (٢ × نسبة العبور المزدوج) ، ويتضح ذلك من المثال التالى :

إذا كانت المسافة بين B — A = ٢٠ ، بين C — B = ١٠ ، وبين C — A = ٣٠

وحدة خريطية ،فان النسبة المئوية للعبور الذى يمكن ادراكه من التلقيـــح الاختبارى لافراد ثنائية الهجين AC/ac x ac/ac = ٢٠ر٠ + ١٠ر٠ — ٢ (٢٠ر٠) (١٠ر٠) = ٣٠ر٠ — ٢ (٢٠ و٠) = ٣٠ر٠ — ٤٠ر٠ = ٢٦ر٠ أو ٢٦٪ (١٣٪ Ac/ac و ١٣٪ aC/ac) وهذا أقل من الواقـــع •

ترتيب الجينات : Gene Order

إنّ الاضافية التى تتمتع بها المسافات الخريطية تسمح لنا بوضع الجينـات فى ترتيبها الطولى المناسب• فعلى سبيل المثال إذا وُجِدَت ثلاثة جينات مرتبطة فانها تكون فى واحد من ثلاثة تراتيب مختلفة ،ويتوقف ذلك على أى مـن الجينات يشغل الموقع الوسطى ،دعنا ننسى حاليا أيها يكون ناحية اليميـن وأيها يكون ناحية اليسار• فاذا كانت المسافة بين B — A = ١٢ ،وبين C — B = ٧ ،بين C — A = ٥ ،فانه فى هذه الحالة يمكننا أن نُقَرِّر الترتيب الصحيح كالاتـــى :

• الحالة الاولى :

اذا فرضنا أن A هو الموقـــع الوسطـــى :

B	12	A	A	5	C
B	7	C			

فان المسافات بين C — B تكون غير متوافقة ،لذلك لايمكن أن يكون الموقـــع A فى الوســـط •

• الحالة الثانية : إذا فرضنا أنّ B هو الموقـــع الوسطـــى

A	12	B	B	7	C

A	5	C

وبإجراء المقارنات النسبية بين المسافات الخريطية للجينات ،
فإنّ المسافات بين C — A تكون غير متوافقة ،لذلك لايمكن أن يكون الموقع B في الوسط .

الحالة الثالثة : إذا فرضنا أنّ C هو الموقع الوسطى

A	5	C	C	7	B

A	12	B

فتكون المسافات بين B — A متوافقة ،من ذلك نستنتج أن C لابد أن يكون هو المحتمل للموقع الوسطى .

مما سبق يمكن تقرير أنّ التنظيم الطولى لهذه الجينات على الكروموسوم المحمولة فيه هو :

A — C — B أو B — C — A

وتوجد طرق أخرى لتحديد ترتيب الجينات سنعرض لها في جزء لاحق .

الترتيب الطولى للجينات فى الكروموسومات (أمثلة نموذجيـــة) :

كما سبق أن ذكرنا فَسَّر مورجان الارتباط على أساس أنّ الجينات المرتبطة تميل إلى البقاء فى اتحاداتها الأصلية ،كذلك اقترح أنّ شِدّة الارتباط تتوقـــف على المسافة بين الجينات المرتبطة فى نفس الكروموسوم ٠ ولقياس تلك المسافـــة استعمل مورجان ١٪ عبور كوحدة للقياس ،وبذلك تَمكّن من تحديد التسلســـل النسبى للجينات المحمولة فى الكروموسوم ورَسْم الخرائط الكروموسوميـــــــة ٠

فاذا فرضنا أنّ جيناً مثل A يرتبط بآخر مثل B وبثالث مثل C ،فلابد أن يكون كل من B و C أيضا مرتبطين ٠ وتصبح العلاقة بين الجينات الثلاثة مشابهة للعلاقة الهندسية بين ثلاث نقط تقع على خط مستقيم ٠ وبناء على ذلـك فانّ المسافة التى تفصل بين A و C ،قد تكون حاصل جمع المسافة بين A و B ، والمسافة بين B و C ،إذا كان B هو الموقع الوسطى ،أو باقى طرح المسافتين اذا كان C هو الموقع الوسطى ٠ فمثلا إذا كانت نسبة العبوربين A و B هـــى ٣٪ ، وبين B و C هى ٩٪ وبين A و C هى ١٢٪ ،فإنّ الترتيب الهندسى لهذه المواقع الثلاثة فى الكروموسوم هو ABC ،والمسافة النسبية بينها هى ٣و٩و ١٢ على الترتيـــــب٠

ولقد بيّنت تجارب العبور ،بطريقة مؤكدة ،أنّ الجينات تنتظم فـــــى الكروموسومات فى ترتيــــب طولــــــى ٠

وفيما يلى وصف لبعض التجارب المستعملة فى رسم الخرائط الوراثيـــــة :

فى الدروسوفلا ميلانوجاستر يوجد ثلاث طفرات متنحية مرتبطة بالجنس هى :درعى scute(sc) شوكى العين echinus(ec) ، وعديم العـــرق العرضـــى crossveinless(cv) ٠ ولقد أجريت تجربة لقحت فيها أفــراد شوكية العيون أصيلة مع أخرى درعية عديمة العرق العرضى أصيلة أيضا ،ونتـــج

الجيل الاول الخليط الثلاثى Tri-heterozygote، ولما كانت الجينات مرتبطة بالجنس فتكون جميع الافراد الخليطة إناثا • ثم لُقّحت اختباريا أنثى خليطة ثلاثية من الجيل الاول مع ذكر متنحى ثلاثى Triple recessive للحصول على نسل التلقيح الاختبارى ،وفيما يلى ملخص لهذه التجربة •

الآباء : ♀ $\frac{sc \quad + \quad cv}{sc \quad + \quad cv}$ عديم العرق درعى × ♂ $\frac{+ \quad ec \quad +}{}$ شوكى

الجيل الأول : ♀♀ $\frac{sc \quad + \quad cv}{+ \quad ec \quad +}$ ، ♂♂ $\frac{sc \quad + \quad cv}{}$

التلقيح الاختبارى: ♀ $\frac{sc \quad + \quad cv}{+ \quad ec \quad +}$ x ♂ $\frac{sc \quad ec \quad cv}{}$

Gametes

1	sc	+	cv	parental	طرز أبوية
2	+	ec	+		
3	sc	ec	+	crossover I	طرز عبور المنطقة الاولى
4	+	+	cv		
5	sc	+	+	crossover II	طرز عبور المنطقة الثانية
6	+	ec	cv		
7	sc	ec	cv	double crossover	طرز العبور المزدوج
8	+	+	+		

sc ec cv

نسل التلقيح الاختبارى :

الفئات المظهرية		العدد		%	الاتحادات
١ ـ شوكى	+ ec +	٨٠٨	١٦٣٨	٨٢٫٧	أبوية
٢ ـ د رعى عديم العرق	sc + cv	٨٢٨			
٣ ـ د رعى شوكى	sc ec +	٦٢	١٥٠	٧٫٦	إتحادان جديدان للموقعين ec و sc نتيجة لعبور فردى فى المنطقة الأولى •
٤ ـ عديم العرق	+ + cv	٨٨			
٥ ـ د رعى	sc + +	٨٩	١٩٢	٩٫٧	إتحادان جديدان للموقعين ec ، cv نتيجة عبور مفرد فى المنطقة الثانية •
٦ ـ شوكى عديم العرق	+ ec cv	١٠٣			
٧ ـ عادى (برى)	+ + +	[illegible]	صفر	صفر	إتحادان جديدان للموقع الوسطى ec نتيجة عبور مزدوج فى المنطقتين فى نفس الوقت
٨ ـ د رعى شوكى عديم العرق	sc ec cv	صفر			
المجموع الكلى للنسل		١٩٨٠	١٩٨٠	١٠٠٪	

ويمكن تحليل نتائج الجدول السابق فيما يلي :

أ ـ نسبة الاتحادات الابوية كانت أعلى تكرار مما يدل على وجود الارتباط ، ويلاحظ أنّ الافراد فيها احتفظت بنفس التركيب الوراثي للآبـاء .

ب ـ نسبة العبور في المنطقة الاولى (الفئات ٣ ، ٤) بلغت ٦ر٧٪ أي أنّ المسافة بين ec و sc هي ٦ر٧ وحدة عبورية ، بينما كانت نسبة العبور في المنطقة الثانية (الفئات ٥ و ٦) بلغت ٧ر٩٪ ، أي أن المسافة بين cv و ec هي ٧ر٩ وحدة عبورية .

جـ ـ الفئات ٣ ، ٤ ، ٥ ، ٦ هي اتحادات جديدة للموقعين cv و sc ، وهي أساسا نتيجة عبور مفرد في المنطقة الاولى ، أو عبور مفرد في المنطقة الثانية ـ وفيها تغير الاتحاد الابوي للموقعين cv و sc ، ومجموع هذه الاتحادات الجديدة لهذين الموقعين هي ٣ر١٧٪ ، أي أن المسافة بينهما هي ٣ر١٧ وحدة عبورية .

د ـ لم يحدث عبور مزدوج بين cv و sc في نفس الوقت ، ويستدل على ذلك بغياب الفئتين ٧ و ٨ ، كما يلاحظ أن نسبة الاتحادات الجديدة بين الموقعين cv و sc (٣ر١٧٪) هي مجموع نسب الاتحادات الجديدة للموقعين (sc و ec = ٦ر٧٪) والاتحادات الجديدة للموقعين (cv ـ ec = ٧ر٩٪) . أي أنّ المسافة بين الموقعين cv ـ sc هي مجموع المسافتين (cv ـ ec) و (ec ـ sc) ، مما يدل على أن هذه الجينات تنتظم طوليا في الكروموسوم X بالترتيب (sc-ec-cv) أو (cv -ec-sc) أي أن ec يحتل الموقع الوسطـي .

وباتباع نفس الاسلوب يمكن اضافة مواقع جديدة لهذه الخريطة ، ولذا تصمم التجارب بحيث تشمل موقعين معروفين من قبل مع إضافة موقع جديد ، كما يتضح من التجربة التالية ، فقد أدخل موقع الجين مقطوع الجناح cut(ct)

مع الموقعين cv و ec السابقين ، وأجرى التلقيح التالـــى :

الآبـــاء : ♀ $\frac{+\quad cv\quad +}{+\quad cv\quad +}$ عديم العرق العرضـــى × ♂ $\frac{ec\quad +\quad ct}{\quad}$ شوكى مقطـــوع

الجيل الأول : ♀♀ $\frac{+\quad cv\quad +}{ec\quad +\quad ct}$ ، ♂♂ $\frac{+\quad cv\quad +}{\quad}$

التلقيح الاختبارى : ♀ $\frac{+\quad cv\quad +}{ec\quad +\quad ct}$ × ♂ $\frac{ec\quad cv\quad ct}{\quad}$

نسل التلقيح الاختبارى :

الفئات المظهريـــة	التكرار	%	الاتحـــادات
١ـ عديم العرق + cv +	٢٢٠٧	٨١,٤٦	أبويـــة
٢ـ شوكى مقطوع ec + ct	٢١٢٥		
٣ـ شوكى عديم العرق ec cv +	٢٧٣	١٠,١٢	اتحادان جديدان للموقعين cv و ec نتيجة عبور مفرد فى المنطقة الأولى .
٤ـ مقطوع + + ct	٢٦٥		
٥ـ شوكى ec + +	٢١٧	٨,٢٧	اتحادان جديدان للموقعين cv و ct نتيجة عبور مفرد فى المنطقة الثانية .
٦ـ عديم العرق مقطوع + cv ct	٢٢٣		
٧ـ عادى (برى) + + +	٥	٠,١٥	اتحادان جديدان للموقع الوسطى cv نتيجة عبور مزدوج فى المنطقتين معا .
٨ـ شوكى عديم العرق مقطوع ec cv ct	٣		
المجموع الكلى	٥٣١٨	١٠٠٪	

ولتحليل هذه النتائج نتبع الخطوات التالية :

(أ) بالاضافة الى ماذُكِر سالفا — توجد طريقة أخرى سهلة لمعرفة ترتيب المواقع التى تشملها تجربة ارتباط ثلاثية المواقع ، وذلك بمقارنة تكرارات الفئات ، حيث أعلى التكرارات هى الابُوية وأقل التكرارات هى فئتى العبور المزدوج . وبمقارنة اتحاد الاليلات بالنسبة للمواقع الثلاثة فى الفئتين الاخيرتين مع اتحادها فى الفئتين الابُويتين يمكن تحديد الموقع الوسطى وهو الموقع الوحيد الذى تحرك ، وبالتالى تتغير علاقته بالنسبة للموقعين الآخرين .

(ب) مجموع الاتحادات الجديدة للموقعين ec و cv تساوى مجموع الفئات ٣ ، ٤ ، ٧ ، ٨ (= ٢٧٣ + ٢٦٥ + ٥ + ٣) = ٥٤٦ حشرة) وتبلغ نسبتها ٢٧ر١٠ من المجموع الكلى للنسل .

(ج) مجموع الاتحادات الجديدة للموقعين ct و cv تساوى مجموع الفئات ٥ ، ٦ ، ٧ ، ٨ (= ٢١٧ + ٢٢٣ + ٥ + ٣ = ٤٤٨ حشرة) ونسبتها ٤٢ر٨٪ من المجموع الكلى للنسل .

(د) مجموع الاتحادات الجديدة للموقعين الطرفيين ec و ct تساوى مجموع الفئات ٣ ، ٤ ، ٥ ، ٦ فقط (= ٢٧٣ + ٢٦٥ + ٢١٧ + ٢٢٣ = ٩٧٨ حشرة حشرة) ونسبتها ٣٩ر١٨ من المجوع الكلى للنسل .

(هـ) حيث أن فئتى العبور المزدوج (٧ و ٨) مازالتا بنفس الاتحادات الابُوية بالنسبة للموقعين الطرفيين ، لأنّ العبور فى المنطقة الثانية يلغى أثر العبور فى المنطقة الاولى ، لذلك نجد أن نسبة الاتحادات الجديدة بين الموقعين الطرفيين ، لا تتفق مع نسبة العبور الواقعى الذى حدث بينهما ، حيث أن كل فرد فى فئتى العبور المزدوج يمثل عبورين حدثا بين هذين الموقعين .

ولحساب النسبة المئوية للعبور الحقيقي الذى حدث ،لابد من إضافة ضعف مجموع فئتى العبور المزدوج إلى مجموع الاتحادات الجديدة السابقة ، وبناء على ذلك تكون نسبة هذا العبور هى ١٨،٦٩٪ ،وهى عبارة عن مجموع نسبتى العبور فى كل من المنطقة الاولى والثانية على حده ،والتى قدرت مين نسب الاتحادات الجديدة لموقعى المنطقة الاولى ولموقعى المنطقة الثانية (١٠،٢٧ +٨،٤٢=١٨،٦٩) . ويلاحظ أن الفرق بين النسبة المئوية للعبور الحقيقى بين الموقعين الطرفيين (ec ct) والنسبة المئوية للاتحادات الجديدة بينهما ،وهو :

(١٨،٦٩٪ -١٨،٣٩٪=٠،٣٪) ،يساوى ضعف النسبة المئوية للعبور المزدوج الواقعى وهى (٠،١٥٪) . وكما لاحظنا فى التجربة الاولى ،ففى الحالات التى لايظهرفيهاعبور مزدوج ،نجد دائما أن النسبة المئوية للاتحادات الجديدة للموقعين الطرفيين تساوى النسبة المئوية للعبور بينهما .

رسم الخرائط الارتباطية من تجارب الارتباط Linkage Mapping :

المقاطع الخريطية التى يمكن الحصول عليها من تجارب الارتباط ذات الثلاث نقط يمكن دمجها مع بعض لرسم الخريطة الوراثية لأى مجموعة ارتباطية Linkage group ،ويتضح ذلك من المثال التالى :

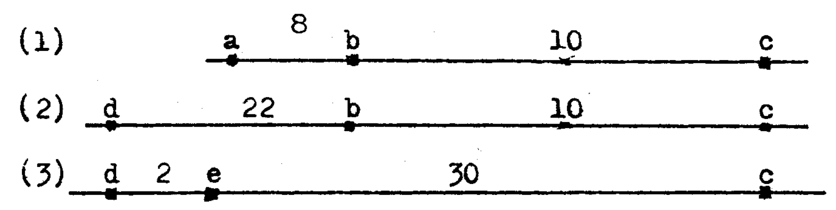
نفترض أنه توفرت لدينا معلومات من تجارب ارتباط وراثية عن ثلاث مقاطع من كروموسوم معين ولتكن :

(1) a — 8 — b — 10 — c

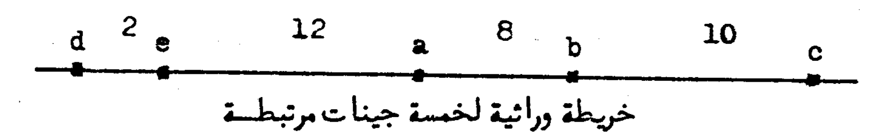
(2) c — 10 — b — 22 — d

(3) c — 30 — e — 2 — d

رتب هذه المقاطع حيث تكون الجينات المشتركة فى انتظام بجانب بعضها كما يلى :



وبناء على العلاقة الهندسية بين ثلاث نقط أو أكثر تقع على خط مستقيم ، فانه يمكن ربط هذه المقاطع الثلاثة فى خريطة ارتباطية واحدة كما يلى :
المسافة من a إلى d = (المسافة من d إلى b) — (المسافة من a إلى b) =٢٢—٨=١٤ ، المسافة من a الى e = (المسافة من a الى d) — (المسافة من d الى e) =١٤ — ٢=١٢ ، مما سبق يمكن رسم الخريطة الاتباطية كالاتى :



خريطة وراثية لخمسة جينات مرتبطة

وبإضافة مقاطع جديدة بهذه الطريقة يمكن الحصول على خريطة ارتباطية كاملة قد تطول لأكثر من ١٠٠ وحدة خريطية . وعلى الرغم من ذلك ، كما أوضحنا سابقا ، فان نسبة الاتحادات الجديدة بين جينين مرتبطين لا يمكن أن تزيد عن ٥٠٪ بأى حال من الأحوال . وبمعنى آخر فإنّ الجينات البعيدة جدا على نفس الكروموسوم قد تسلك وكأنها على كروموسومات مستقلة (كأنها تتوزع مستقلة) نظرا لأنّ احتمال حدوث كيازمات بينها يكون عاليا .

التداخل ومعامل التوافق Interference and Coincidence :

لوحظ فى معظم الكائنات الراقية أنّ حدوث كيازما واحدة فى منطقة ما على الكروموسوم يقلل من احتمال حدوث كيازما أخرى فى المناطق المجاورة على جانبى

الكيازمة الاولى . وهذا التناقص في عدد الكيازمات المجاورة يعزى الى عدم (قدرة الكروماتيدات على الانثناء على بعضها داخل مسافة معينة من الكيازمة الاولى ، ويعرف ذلك بالتداخل Interference ،وتكون المحصلة النهائية لذلك هي نقص عدد أفراد العبور المزدوج المشاهدة عن العدد المتوقع بناء على المسافات الخريطية . و تختلف شدة التداخل باختلاف مقاطع الكروموسوم ، ويمكن حساب شدة التداخل بحساب معامل التوافق Coincidence coefficient وهو النسبة بين العبور المزدوج المشاهد ،والعبور المزدوج المتوقع ،على أساس افتراض استقلال كل من العبورين الفرديين :

$$\text{معامل التوافق} = \frac{\text{\% للعبور المزدوج المشاهد}}{\text{\% للعبور المزدوج المتوقع}}$$

ملحوظة :
العبور المزدوج المتوقع = حاصل ضرب العبور المفرد الاول × العبور المفرد الثاني على أساس استقلالهما .

وتتراوح قيمة معامل التوافق بين صفر إلى ١ صحيح ،أى أن التوافق + التداخل = ١ ،فاذا كان التداخل تاما (= ١) ،لا تتكون أفراد مزدوجة العبور ويكون معامل التوافق = صفرا ،أما اذا تكونت جميع الافراد مزدوجة العبور المتوقعة ،فإنّ معامل التوافق = ١ ،ويكون التداخل = صفرا ،وعندما يحدث التداخل بنسبة ٣٠٪ يصبح معامل التوافق = ٧٠٪ . وهكذا. ويتضح ذلك من الامثلة التالية :

مثال (١) :
اذا كانت المسافات الخريطية بين الموقعين A – B = ١٠ وبين C – B = ٢٠ ، ∴ العبور المزدوج المتوقع= ١٠ر٠ × ٢٠ر٠ = ٢٪ ،إذا لم

يحدث تداخل . فاذا فُرِضَ أنّ العبور المزدوج الواقعى (المشاهد) فى تجربة ما هـــو ١٦ر١ ٪ ،

∴ معامل التوافق = $\frac{١٫٦ ٪}{٠٫٢ ٪}$ = ٨ر٠ = ٨٠٪

وهذا يعنى أننا حصلنا فقط على ٨٠٪ من أفراد العبور المزدوج المتوقعة على أساس استقلال العبورين المفرديـــن .

∴ التداخل = ٠ر١ — ٨ر٠ = ٢٠ر٠ = ٢٠٪

أى أنّ ٢٠٪ من أفراد العبور المزدوج المتوقعة لم تتكون نتيجة للتداخل. ويمكن حساب النسبة المئوية للعبور المزدوج المحتمل الحصول عليها ،وذلك بضرب قيمة العبور المتوقع فى معامل التوافق ،فكما فى المثال الحالى : العبـــور المزدوج المتوقع× معامل التوافق = العبور المزدوج المحتمل = ٢٠ر٠ × ٨ر = ١٦ر١٪ .

مثال (٢) : أذا كانت المسافات الخريطية a 10 b 20 c

ويوجد تداخل بنسبة ٤٠٪ ،فاننا نتوقع ١ر٠×٢ر٠=٢٠ر٠ أو ٢٪ عبور مـزدوج على أساس استقلال احتمال كلا العبورين ،الا أننا قد حصلنا على ٦٠٪ فقط من العبور المزدوج نتيجة للتداخل ،لذلك فاننا نتوقع أن نحصل على : ٢٠ر٠ × ٦ر٠ =١٢٠ر٠ أو ٢ر١٪ أفراد عبورية مزدوجـــــــة .

تقديرات الارتباط من بيانات الجيل الثانى :

توجد طريقة أخرى بديلة لطريقة التلقيح الاختبارى لادراك وجود الارتباط وتقدير المسافات بين الجينات ،وهى بأن نسمح لافراد الجيل الاوّل ثنائيـــة

الهجين بأن تتزاوج فيما بينها لتكوّن الجيل الثانى ،وذلك بتركها تتزاوج عشوائيا ،أو نسمح للجيل الاوّل بالاخصاب الذاتى ،كما فى حالة النباتات .
إلاّ أنّ هذه الطريقة ليست بنفس قوة ودقة طريقة التلقيح الاختبارى . والجيل الثانى الناتج فى هذه الحالة لاتتفق فيه النسبة المظهرية مع النسبة ٩ : ٣ : ٣ : ١ المتوقعة للجينات مستقلة التوزيع ،ويعتبر عدم التوافق هذا دليلا على وجود الارتباط. وتوجد طريقتان لتقدير درجة الارتباط بين الجينات باستعمال بيانات الجيل الثانى :

(أ) طريقة الجذر التربيعى : Square Root Method

يمكن استعمال تكرار الفئة المتنحية المزدوجة double recessive التى تظهر فى الجيل الثانى كدالة لتقدير نسبة الجاميطات اللاعبورية عند ما يكون الجيل الاوّل بالتركيب الوراثى فى الوضع التجاذبى coupling phase، وكدالة لتقدير نسبة الجاميطات العبورية عند ما يكون الجيل الاوّل بالتركيب الوراثى فى الوضع التنافرى Repulsion phase .

١ـ الجيل الاوّل فى الوضع التجاذبى : AB/ab

الجيل الثانى :
تكرار الجاميطات ab = $\frac{1}{2}$ تكرار كل الجاميطات اللاعبورية .

فاذا فرضنا أن نسبة العبور هى ٢٠٪ ،فاننا نتوقع أن يكون ٨٠٪ من الجاميطات لاعبورية (٤٠٪ AB و ٤٠٪ ab ،واحتمال أن تتّحد جاميطتان بالتركيب ab معا لتكوّن المتنحى المزدوج = (٠,٤٠)^2 = ٠,١٦ أو ١٦٪ . أما اذا لم يكن معروف لدينا نسبة العبور ،لكن بيانات الجيل الثانى تدلنا على أن ١٦٪ من النسل يحمل المتنحى المزدوج ،حينئذ تكون نسبة الجاميطات AB , ab اللاعبورية = ٢ $\sqrt{\text{نسبة فئة المتنحى المزدوج}}$ = ٢ $\sqrt{٠,١٦}$ = ٢ (٠,٤٠) = ٠,٨٠ .

أى ٨٠٪ ،واذا تبين من النسل أنّ ٨٠٪ لاعبورى ،فلابد أنْ تكون الـ ٢٠٪ الباقية عبورية . ومن ذلك يمكن تقدير المسافة بين الجينين B , A بـ ٢٠ وحدة عبوريـــــــــة .

٢ ـ الجيل الأول فى الوضع التنافرى Ab/aB :

الجيل الثانى : تكرار الجاميطات ab = $\frac{1}{2}$ تكرار كل الجاميطات العبورية .

فاذا فرضنا أنّ نسبة العبور بين الموقعين هى ٢٠٪ فاننا نتوقع أنّ ١٠٪ مـــن الجاميطات تكون بالتركيب ab ، واحتمال أن تتّحد جاميطتان بالتركيب ab معا لتكوّن المتنحى المزدوج (ab /ab) = (١ر٠)^{٢} = ٠١ر٠ = ١٪ . فإذا لم يكن معروفا لدينا نسبة العبور ، ولكن بيانات الجيل الثانى تدلنا على أنّ ١ ٪ من النسل يحمل المظهر المتنحى المزدوج ، فإن نسبة الجاميطات العبوريـــة =

٢ $\sqrt{\text{نسبة فئة المتنحى المزدوج}}$ = ٢ $\sqrt{٠١ر٠}$ = ٢ (١ر٠) = ٢ر٠ أو ٢٠٪ .

∴ المسافة a — b = ٢٠ وحدة عبورية .

(ب) طريقة ضرب النسب Product Ratio Method:

يمكن تقدير تكرار الاتحادات الجديدة من آباء خليطة ثنائيـــة (F_1- dihybrid) باستعمال تراكيب الجيل الثانى المظهرية R-S- ، R-ss ، rrS- و rrss والتى تظهر بالكرارات a ، b ، c ، d على التوالى . وتكون نسبة الفئات العبورية للفئات الأبوية ، والتى تسمى النسبـــة الناتجة Product Ratio كدالة Function على نسبة حـــدوث الاتحادات الجديدة ، ويرمز لها بالرمز (X) .

وفى حالة البيانات الناتجة من هجن بالوضع التجاذبى X = $\frac{bc}{ad}$ ،

وفى حالة البيانات الناتجه من هجن بالوضع التنافرى X = $\frac{ad}{bc}$ ، ويمكـــن

مباشرة استخراج قيمة الاتحادات الجديدة التى تمثلها القيمة X من جدول نواتج النسب Product Ratio Table (الجدول ٧ — ١) . وهذه الطريقة تستعمل كل بيانات الجيل الثانى ، وليس فقط نسبة المتنحى المزدوج كما هو الحال فى طريقة الجذر التربيعى . وطريقة النسب أكثر دقة من طريقة الجذر التربيعى .

والمثالان التاليان يوضحان طريقة ضرب النسب لحساب نسبة الاتحادات الجديدة من بيانات الجيل الثانى :

مثال (١) :

بيانات من تلقيح بالوضع التجاذبى Coupling data :

الآبـــاء : rs/rs x RS/RS

الجيل الأول : (وضع تجاذبى) RS/rs

الجيل الثانى :

الأعداد	الفئات المظهرية
١٢٢١	(a) R-S-
٢١٩	(b) R-ss
٢٤٦	(c) rrS-
٢٤٣	(d) rrss

$$\therefore X \text{ (لبيانات الوضع التجاذبى)} = \frac{bc}{ad} = \frac{(٢٤٦)\ (٢١٩)}{(٢٤٣)\ (١٢٢١)} =$$

$$\frac{٥٣٨٧٤}{٢٩٦٧٠٣} = ٠,١٨١٦$$

وبالبحث عن وضع القيمة X فى عمود التجاذب coupling colmmn (فى الجدول ٧ — ١) نجد أن القيمة ٠,١٨١٦ تنحصر بين القيم ٠,١٧٧٧و ٠,١٩٤٨ ، وهذه تقابل نسبة الاتحادات الجديدة المحصورة بين ٠,٢٨ و ٠,٢٩ على التوالى . من

ذلك يمكن القول أنّ نسبة الاتحادات الجديدة حوالى ٢٨٪ .

مثال (٢) : بيانات من تلقيح بالوضع التنافرى Repulsion data :

الآبـــــاء : Ve/Ve x vE/vE

الجيل الأول : وضع تنافرى Ve/vE

الجيل الثانى :

الأعداد	الفئات المظهرية
٣٦	(a) V-E-
١٢	(b) V-ee
١٦	(c) vvE-
٢	(d) vvee

X (لبيانات الوضع التنافرى) $= \frac{ad}{bc} = \frac{(٣٦)\ (٢)}{(١٦)\ (١٢)} = \frac{٧٢}{١٩٢} =$

٠,٣٧٥٠ ، وبالبحث عن وضع القيمة X فى عمود التنافر Repulsion column (فى الجدول ٧ — ١) ، نجد أن القيمة ٠,٣٧٥٠ تنحصر بين القيم ٠,٣٦٤٣ و ٠,٣٩٢٧ وهذه تقابل الاتحادات الجديدة المحصورة بين ٠,٣٦ و ٠,٣٧ على التوالى .

من ذلك يمكن القول أن نسبة الاتحادات الجديدة حوالى ٣٦ ٪ .

استعمال الخرائط الوراثية :

١ — التنبؤ بنتائج الهجن الثنائية : إذا كانت المسافة الخريطية معروفة بـــين أىّ جينين مرتبطين ، فإنّ التوقعات لأى نوع من التزاوج يمكن التنبوء بها باستعمـــال الجدول الشطرنجى ، كما يتضح من المثال التالى :

إذا كانت المسافة بين الجينين المرتبطين A و B هى ١٠ وحدات خريطية ، وكانت الآباء فى تلقيح ما هى ab / ab × AB / AB ، فـــإنّ

الجيل الأول جميعه سيكون خليطا ويا لتركيب التجاذبى coupling • وفى هـذه الحالة نتوقع أن نجد ١٠٪ من جاميطات الجيل الأول تكون من النوع العبورى (٥٪ Ab و ٥٪ aB) • ونتوقع أن تكون ٩٠٪ من جاميطات الجيل الأول أبوية التركيب الوراثى (٤٥٪ AB و ٤٥٪ ab) • ويمكن استخراج فئات الجيل الثانى وتكراراتها باستعمال الجدول الشطرنجى للجاميطات ، مع ضرب النسب كاحتمالات مستقلة :

♂ / ♀♀		جاميطات أبوية التركيب		جاميطات عبورية	
		٠ر٤٥ AB	٠ر٤٥ ab	٠ر٠٥ Ab	٠ر٠٥ aB
جاميطات أبوية	٠ر٤٥ AB	٠ر٢٠٢٥ AB/AB	٠ر٢٠٢٥ AB/ab	٠ر٠٢٢٥ AB/Ab	٠ر٠٢٢٥ AB/aB
	٠ر٤٥ ab	٠ر٢٠٢٥ ab/AB	٠ر٢٠٢٥ ab/ab	٠ر٠٢٢٥ ab/Ab	٠ر٠٢٢٥ ab/aB
جاميطات عبورية	٠ر٠٥ Ab	٠ر٠٢٢٥ Ab/AB	٠ر٠٢٢٥ Ab/ab	٠ر٠٠٢٥ Ab/Ab	٠ر٠٠٢٥ Ab/aB
	٠ر٠٥ aB	٠ر٠٢٢٥ aB/AB	٠ر٠٢٢٥ aB/ab	٠ر٠٠٢٥ aB/Ab	٠ر٠٠٢٥ aB/aB

جدول يوضح طريقة ضرب النسب كاحتمالات مستقلة للتنبوء بنتائج الهجن الثنائية باستعمال الخرائط الوراثية •

جدول : ٧ ـ ١ : قيم الاتحادات الجديدة مقدرة بطريقة ناتج ضرب النسب .

Recombination fraction estimated by thr product ratio method

Recomb. fraction	Ratio of Products		Recomb. fraction	Ratio of Products	
	ad/bc (Repul.)	bc/ad (Coupl.)		ad/bc (Repul.)	bc/ad (Coupl.)
.00	.0000	.0000	.26	.1608	.1467
.01	.0002	.0001	.27	.1758	.1616
.02	.0008	.0006	.28	.1919	.1777
.03	.0018	.0012	.29	.2089	.1948
.04	.0032	.0023	.30	.2271	.2132
.05	.0050	.0036			
.06	.0072	.0053	.31	.2465	.2328
.07	.0099	.0073	.32	.2672	.2538
.08	.0130	.0098	.33	.2892	.2763
.09	.0165	.0126	.34	.3127	.3003
.10	.0205	.0158	.35	.3377	.3259
.11	.0249	.0195	.36	.3643	.3532
.12	.0298	.0235	.37	.3927	.3823
.13	.0352	.0283	.38	.4230	.4135
.14	.0412	.0335	.39	.4553	.4467
.15	.0476	.0392	.40	.4898	.4821
.16	.0546	.0454	.41	.5266	.5199
.17	.0621	.0522	.42	.5660	.5603
.18	.0703	.0597	.43	.6081	.6034
.19	.0791	.0678	.44	.6531	.6494
.20	.0885	.0767	.45	.7013	.6985
.21	.0987	.0863	.46	.7529	.7510
.22	.1095	.0966	.47	.8082	.8071
.23	.1211	.1078	.48	.8676	.8671
.24	.1334	.1198	.49	.9314	.9313
.25	.1467	.1328	.50	1.0000	1.0000

From: F.R.Immer & M.T.Henderson, Genetics, 28 (1943).

ويمكن تلخيص الفئات المظهرية وتكراراتها كالآتى :

٠٫٧٠٢٥	أى ٧٠٫٢٥٪	A-B-
٠٫٠٤٧٥	" ٤٫٧٥ ٪	A-bb
٠٫٠٤٧٥	" ٤٫٧٥٪	aaB-
٠٫٢٠٢٥	" ٢٠٫٢٥ ٪	aabb

٢ ــ التنبوء بنتائج الهجن الثلاثية :

يمكن استعمال المسافات الخريطية أو النسب المئوية للعبور لتقديرات الاحتمالات. فإذا توفرت لدينا معلومات ، فى تلقيح ما ، عن المسافات الخريطية للجينات المرتبطة ،وكذلك عن التوافق والتداخل لمنطقة معينة من الكروموسوم ، فانه فى هذه الحالـــة يمكننا التنبوء بالنتائج المحتملة فى جيل النسل ، كما يتضح ذلك من المثال التالى :

فى التلقيح المبين بعد كانت البيانات كما يلى :

الآبـــــاء : abc/abc x AbC/aBc

الخريطة الوراثية : a —10— b —20— c

التداخل : ٤٠ ٪

مما سبق يمكن حساب تكرارات الفئات المظهرية الناتجة من التلقيح باتبـــاع الخطوات التالية :

١ ــ تُحدّد الفئات الأبوية ، وفئات العبور المفرد فى المنطقة الأولى وفئات العبـــور المفرد فى المنطقة الثانية ، ثم فئتى العبور المزدوج المتوقعة فى النسل :

الفئـــــات	من الخطوة الأولى	من خطوات من ٢ ـ ٥	
أبويـــــة	AbC	٣٥٫٦٪	٧١٫٢٪
	aBc	٣٥٫٦٪	
عبور مغرد ، منطقة I	ABc	٤٫٤ ٪	٨٫٨ ٪
	abC	٤٫٤ ٪	
عبور مغرد ، منطقة II	Abc	٩٫٤ ٪	١٨٫٨ ٪
	aBC	٩٫٤ ٪	
عبور مزدوج	aBC	٠٫٦ ٪	١٫٢ ٪
	abc	٠٫٦ ٪	
المجموع		١٠٠٪	

٢ ـ تحسب تكرارات فئات العبور المزدوج المتوقع وجودها فى النسل وذلك بضرب قيم المسافات الخريطية × معامل التوافق :

١٫٠ × ٢٫٠ × (١ ـ ٤٫٠) = ٠١٢٫٠ أو ١٫٢ ٪

وتقسم هذه النسبة بين فئتى العبور المزدوج بالتساوى ، أى أنّ كل فئة تكون نسبتها ٠٫٦ ٪ .

٣ ـ يحسب تكرار فئتى العبور المفرد فى المنطقة الأولى بين a ، b حيث تصحح قيمتها بالنسبة لفئات العبور المزدوج .

١٠٪ ـ ١٫٢ ٪ = ٨٫٨ ٪

وتقسم هذه النسبة لتكون ٤ر٤ ٪ لكل فئة ٠

٤ — يحسب تكرار فئات العبور المفرد فى المنطقة الثانية بين b و c ، وتصحح قيمتها بالنسبة لفئات العبور المزدوج ٠

٢٠ ٪ — ٢ر١ ٪ = ٨ر١٨٪

وتقسم هذه النسبة لتكون ٤ر٩٪ لكل فئة ٠

٥ — يجمع تكرار العبور المفرد فى المنطقة الأولى مع تكرار العبور المفرد فى المنطقة الثانية مع تكرار العبور المزدوج فى المنطقتين معا ، ثم يطرح المجموع الكلى من ١٠٠٪ للحصول على تكرار الفئات الأبوية :

١٠٠ — (٨ر٨ + ٨ر١٨ + ٢ر١) = ٢ر٧١ ٪ ٠

وتقسم هذه النسبة بالتساوى بين فئتى التراكيب الأبوية حيث يكون تكرار كل فئة أبوية ٦ر٣٥٪ ٠

ملحوظة : للتسهيل لا داعى لكتابة التراكيب الوراثية الكاملة للفئات ، حيث أنه يمكن معرفة الفئات المظهرية من تراكيب الجاميطات التى يكونها الخليط ، لأن الفرد الأصيل المتنحى الثلاثى (الأب الاختبارى) يُكوِّن نوعا واحدا من الجاميطات هو abc ، ومن ثمّ فان تركيب أىّ فئة تدل عليه الرموز السائدة فى الجاميطات المتكونة من الأب الخليط (مثلا ABC ، معناها أنّ الفرد المتكون ABC / abc يحمل الثلاث صفات السائدة ، AbC معناها أنّ الفرد المتكون AbC /abc يحمل صفتين سائدتين ٠٠٠٠ وهكذا) ٠

طريقة الاحتمال المركب :

وتوجد طريقة بديلة للسابقة وهى طريقة ضرب احتمالات

حدوث الفئات العبورية واللاعبورية وتستخدم فى حالة عدم وجود تداخل ، وذلك للتنبوء بفئات وتكرارات النسل الناتج من التلقيح الاختبارى للجينات المرتبطة ، وفيما يلى خطوات هذه الطريقة :

فى التلقيح المبيّن بعد مجموعة من البيانات الخاصة بثلاثة جينات مرتبطة والمطلوب هو حساب عدد الأفراد لكل فئة فى النسل :

الآبـــاء : ABC/abc x abc/abc

التوافـــق : 1 (واحد صحيح Unity)

الخريطـــة : a —10— b —20— c
(I بين a و b ، II بين b و c)

عدد النسل : ٢٠٠٠ فرد

١ – تحدد التراكيب الأبوية ، وتراكيب العبور المفرد فى المنطقة الأولى وتراكيب العبور المفرد فى المنطقة الثانية ثم تراكيب العبور المزدوج المتوقعة فى النسل .

الفئـــات	من الخطوة الاولى	من الخطوات ٢ : ٥
أبوية	ABC	٧٢٠
	abc	٧٢٠
عبور مفرد منطقة I	Abc	٨٠
	aBC	٨٠
عبور مفرد ، منطقة II	ABc	١٨٠
	abC	١٨٠
عبور مزدوج	AbC	٢٠
	aBc	٢٠
	المجموع الكلى	٢٠٠٠

٢ ـ يحسب عدد أفراد العبور المزدوج المتوقع فى النسل : (١ر٠ × ٢ر٠ × ٢٠٠٠ = ٤٠ فردا ، تقسم بالتساوى بين فئتى العبور المزدوج (أى ٢٠ فردا لكل فئـة) .

٣ ـ إنّ احتمال حدوث عبور مفرد فى المنطقة الأولى هو ١٠٪ ، ومن ثم فهناك ٩٠٪ ألاّ يحدث عبور فى هذه المنطقة . والاحتمال المركب الذى هو عدم حدوث عبور فـى المنطقة الأولى ولكن حدوثه فى المنطقة الثانية هو (٩ر٠) (٢ر٠) = ١٨ر٠ ، ومن ثمّ فإن عدد النسل العبورى من المنطقة الثانية (II) المتوقع = ٢٠٠٠ × ١٨ر٠ = ٣٦٠ فردا تقسم بالتساوى بين فئتى العبور المفرد فى المنطقة الأولى I أى ١٨٠ فردا لكل فئة .

٤ ـ وبنفس الطريقة فى الخطوة (٣) ، فإن احتمال حدوث عبور فى المنطقة الأولـى وعدم حدوثه فى المنطقة الثانية = ١ر٠ × (٨ر٠) = ٠٨ر٠ ، ومن ثمّ فإن عـدد النسل العبورى فى المنطقة الأولى I = ٢٠٠٠ × ٠٨ر٠ = ١٦٠ فردا ، تقسم بالتساوى بين فئتى العبور ... المفرد فى المنطقة الاولى أى ٨٠ فردا لكـل فئـة .

٥ ـ وبنفس الطريقة فى كل من الخطوة (٣) ، (٤) ، فإن احتمال عدم حدوث عبور فى المنطقة الأولى وعدم حدوثه أيضا فى المنطقة الثانية = ٩ر٠ × ٨ر٠ = ٧٢ر٠ ، ومن ثمّ يمكن حساب عدد الأفراد الأبوية التركيب المتوقعة فى النسل ، حيث ٢٠٠٠ × ٧٢ر٠ = ١٤٤٠ فردا ، تقسم بالتساوى بين الفئتين الأبويتين ، أى ٧٢٠ فردا لكل فئـة .

كبت العبـور Crossover Suppression:

يتأثر معدل حدوث العبور بعدة عوامل خارجية وداخلية كثيرة ، ومن بـين هذه العوامل تأثير الجنس ، العمر ، درجة الحرارة ، بُعْدُ الجينات عن السنترومير أو عن مناطق الهتروكروماتين فى الكروموسوم ، ووجود بعض الشذوذ الكروموسومـى كالانعكاسات Inversions مثلا .

وسنتناول هنا حالتين من حالات كبت العبور المعروفة وهما : (١) الغياب الكلـى للعبور فى ذكر الدروسوفلا ، و (٢) إستمرارية بقاء أنظمة العوامل المميتة المتوازنـة كهجن مستديمة من خلال منع حدوث العبور .

غيـاب العبور فى ذكر الدروسوفلا :

من السّمات غير العادية فى ذكر الدروسوفلا غياب العبور فيه . وهذه الحقيقة يمكن إيضاحها من مقارنة التلقيحات العكسية ، حيث تكون هذه التلقيحات غير متكافئة كما يتضح من المثال التالى :

(أ) اذا لُقِّحت الاناث الخليطة اختباريا مع ذكور متنحية مزدوجة :

فى الدروسوفلا ، الجينان مشعر الجسم hairy (h) ، وقرمزى اللون scarlet(st) محمولان فى الكروموسوم الثالث ، والبعد الخريطى بينهمـا حوالى ٢٠ وحدة . فاذا أُجرى التلقيح الاختبارى التالى للاناث الخليطـة :

♀♀ h +/+ st   x   ♂♂   h st/h st

(إناث برية الطراز خليطة)   (ذكور مشعرة قرمزية)

فيكون النسل الناتج هو المبين فى الجدول التالى :

حيوانات منوية ١٠٠٪ (h st)	♂ / ♀	
h +/h st ٤٠٪ مشعر	(h +) ٤٠٪	٨٠٪ أبيض أبوى التركيب الوراثى
+ st/h st ٤٠٪ قرمزى	(+ st) ٤٠٪	
h st/h st ١٠٪ مشعر قرمزى	(h st) ١٠٪	٢٠٪ أبيض ذو اتحادات وراثية جديدة
+ +/h st ١٠٪ طراز برى	(+ +) ١٠٪	

(ب) إذا لقحت ذكور خليطة للجينين مع إناث متنحية مزدوجة (تلقيح عكسى) :

♀♀ h st/h st x ♂♂ h +/+ st

(ذكور برية الطراز خليطة) (الإناث مشعرة قرمزية)

فيكون النسل الناتج هو المبين فى الجدول التالى

بيض (h st) ١٠٠٪	♀ / ♂	
h +/h st ٥٠٪ مشعر	(h +) ٥٠٪	حيوانات منوية أبوية التركيب الوراثى فقط .
+ st/h st ٥٠٪ قرمزى	(+ st) ٥٠٪	

وبمقارنة نتائج التلقيحين العكسيين أ ، ب السابق ذكرهما يلاحظ تكون فئات اتحادات جديدة فى التلقيح (أ) مما يدل على حدوث العبور فى الاناث ، بينما يلاحظ عدم تكون فئات اتحادات جديدة فى التلقيح (ب) مما يدل على عدم حدوث عبور فى الذكور .

(جـ) أما إذا لقحت ذكور خليطة (ثنائية للهجين) مع إناث أيضا خليطة (ثنائيـة الهجين) كليهما بالتركيب التنافرى ، فى حالة الجينات المرتبطة يظهر النسل دائما فى نسبة ٢ : ١ : ١ ، بغض النظر عن شدة الارتباط بين الجينات ، ولا تظهر فئة المتنحى المزدوج double recessive على الاطلاق ، وهذا برهان آخـر على غياب العبور فى ذكر الدروسوفلا ، وفيما يلى رسم تخطيطى لهذه الحالة :

الآبـــاء : ♂♂ h +/+ st x ♀♀ h +/+ st

النســل : (ذكور برية الطراز) (إناث برية الطراز)

	♀ \ ♂	(h +) ٥٠٪	(+ st) ٥٠٪
٨٠٪ بيض أبوى التركيب الوراثى	(h +) ٤٠٪	h +/h + ٢٠٪ مشعر	h +/+ st ٢٠٪ برى
	(+ st) ٤٠٪	+ st/h + ٢٠٪ برى	+ st/+ st ٢٠٪ قرمزى
٢٠٪ بيض باتحادات وراثية جديدة	(h st) ١٠٪	h st/h + ٥٪ مشعر	h st/+ st ٥٠٪ قرمزى
	(+ +) ١٠٪	+ +/h + ٥٪ برى	+ +/+ st ٥٪ برى

وبتلخيص نتائج الجدول السابق نجد أنّ :

برى الطراز = ٢٠٪ + ٢٠٪ + ٥٪ + ٥٪ = ٥٠٪
مشعر = ٢٠٪ + ٥ ٪ = ٢٥٪
قرمزى = ٢٠٪ + ٥٪ = ٢٥٪

} ٢ : ١ : ١

وحالة غياب العبور كلية ليست خاصة فقط بذكور الدروسوفلا ، لكنها موجـودة أيضا فى اناث دودة الحرير .

العبور والاتحادات الجديدة على ضوء البناء الدقيق للجين :

بينت الدراسات الوراثية الحديثة أنّ عملية العبور وتكوين الاتحادات الوراثية الجديدة ليست قاصرة على الحدوث بين الجينات كوحدات وظيفية ، بل يمكن أن تحدث أيضا داخل الجين نفسه . وبناء على الدراسات التى أجراها عالم الوراثة بنزر Benzer عن البناء الدقيق للجين ، أمكن وضع ثلاثة اصطلاحات لوصف وحدات المادة الوراثية هى :

(١) الميوتن Muton :

وهى وحدة الطفرة ، وقد بينت دراسة الجين المتحكم فى تخليق إنزيم التربتوفان Tryptophane synthetase فى بكتريا القولون أنّه يتكون من مقطع من المادة الوراثية معقد التركيب ، حيث أمكن تقسيمه إلى عدد كبير من المواقع الفردية القابلة للطفرة (مواقع طفرية Mutational sites) أطلق على كُلّ موقع منها لفظ ميوتن Muton ، من ذلك يمكن القول بأن الميوتن هو أصغر جزء من المادة الوراثية لو حدث فيه تغير يعطى طفرة ، ويُعتقد أنّ الميوتن يتكون من عدد يتراوح بين ١ ـ ٥ نوتيدات .

(٢) الريكون Recon :

وهو وحدة تكوين الاتحادات الجديدة ، وهو أصغر جزء من المادة الوراثية يمكن أن يُعَاد ترتيبها بواسطة عملية تكوين الاتحادات الجديدة . ويُعتَقد أنه يتكون من عدد يتراوح بين ١ ـ ٢ نوتيدة .

(٣) السسترون Cistron :

وهو وحدة الوظيفة وهو المقطع من الكروموسوم الذى يتحكم فى صفة معينة . وبالمقارنة بالميوتن والريكون يعتبر السسترون أكبر كثيرا فى الحجم ، إذ يعتقد أنه يتكون من حوالى ٥٠٠ نوتيدة أو أكثر . واذا علمنا أنّ جزئ الدن أ DNA . يتكون من حوالى ٣٠٠,٠٠٠ نوتيدة ، فإن هذا الجزئ قد يحمل حوالى ٦٠٠ سسترون .

مما سبق يمكن تعريف الجين على أنه مجموعة من النوتيدات المرتبة طوليا تشمل كل المساحة الوظيفية اللازمة للتحكم فى نشاط إنزيمى معين . وقد أصبح من المؤكد حاليا أنّ الاتحادات الجديدة يمكن أن تتكون داخل السسترون كوحدة تقوم بوظيفة وراثية واحدة ، إلا أنّ ذلك لا يتم نتيجة لعملية كسر والتحام ـ كما هو الحال بين الجينات المختلفة على الكروموسوم ـ لكن تتكون الاتحادات الجديدة فى حالتنا هذه ، باعادة ترتيب النوتيدات داخل الجين نفسه Intragenic recombination بواسطة عملية مختلفة تماما تسمى النسخ الاختيارى Copy choice أثناء تكاثر المادة الوراثية .

رسم خريطة الجين :

بعد معرفة البناء الدقيق للجين الذى يتكون من تتابع طولى لمجموعة من النوتيدات عكف كثير من علماء الوراثة على رسم خريطة لكل جين فى كثير من الكائنات ، وفيما يلى مثال لذلك .

رسم خريطة الجين Cyc-1 فى الخميرة :

خلال السنوات العشر الماضية عكف شيرمان Sherman ومعاونوه على رسم خريطة دقيقة التركيب للجين Cyc-1 فى الخميرة ، وهذا الجين يقع ضمن المجموعة الارتباطية العاشرة ، وهو يتحكم فى تخليق بادئة البروتين الصغيرة أيزو ـ ١ ـ سيتوكروم ـ c (Iso-1-cytochrome c) التى توجد داخل الميتوكوندريا ، وهو ضرورى لعملية التنفس .

فقد عُزلت سلالات من الخميرة لا تستطيع التنفس ولا يمكنها استعمال اللاكتات كمصدر للكربون ، ولذلك فقد كانت مقاومة للتأثيرات السامة لمادة لاكتات الكلور ، وبعد ذلك اختبر هذه السلالات الطافرة لوجود أو غياب بروتين بالخصائص الطيفية للأيزو ـ ١ ـ سيتوكروم ـ c ، وأمكن عزل ٢١٠ من الطفرات الفردية ، وهذه الطوافر المعزولة Isolated mutants ، إما أنها ينقصها الأيزوسيتوكروم ، أو أنها تكون سيتوكروما غير فعال . وقد قام شيرمان ومعاونوه بتلقيح طوافر Cyc-1 المختلفة مع بعضها البعض ، وحسبوا تكرارات الاتحادات الجديدة للطراز البرى CYC-1 وعزلوا حشداً كبيراً من سلالات حاملة للاقتضابات deletions داخل منطقة الجين CYC-1 ، ثم استعملوا الطوافر الموضعية فى رسم خريطة للاقتضابات ، وبهذه الطريقة تمكنوا من أن ينسبوا الـ ٢١٠ طفرة جينية (موضعية) التى عزلوها إلى ٤٧ موقعاً طفرياً داخل الجين نفسه ، كما تمكنوا دون التباس من أن يرتبوا ٦ من هذه المواقع ترتيباً طولياً . وقد أكد شيرمان صحة هذا الترتيب الطولى بعمل خرائط بيوكيميائية تسمى خرائط نواتج الجين Gene Product maps ، حيث يرتبط فيها موضع حمض أمينى مستبدل فى سلسلة ببتيدية طافرة ، مع موضع تغير قاعدة طفرية فى جزئ الدنا (DNA) المكون لجين ما . وقد ظهر

أن الترتيب النسبى للمواقع الطفرية المستنتج بواسطة خريطة ناتج الجين مطابق تماما لترتيبها النسبى المستنتج بواسطة خرائط الاقتضاب الوراثية • وبمعنى آخر يوجد توازٍ تام strict colinearity بين المواقع الطفرية فى الجين وترتيب الأحماض الأمينية للبروتين الناتج من هذا الجين •

ولقد قدمت هذه التجارب برهانا قويا لمفهوم أنّ الجين التركيبى Structural Gene هو تتابع طولى لنوتيدات تتحكم فى تتابع طولى لأحماض أمينية •

تمرين للتدريب على إدراك الارتباط والعبور ورسم الخرائط الوراثية :

(١) لقح كائنان بالتركيب الوراثى AABBDD و aabbdd ، ثم لقح النسل الناتج إختباريا مع الأب المتنحى ، وكانت تكرارات الفئات المظهرية الناتجة فى النسل هى : ABD = ٢٠ ، abD = ٢٠ ، Abd = ٥ ، aBd = ٥ ، abd = ٢٠ ، ABd = ٢٠ ، aBD = ٥ ، AbD = ٥ ، حدد علاقة الجينات الثلاث ABD ببعضها (بفرض أنها تقع فى نفس الكروموسوم) •

الحل :

إن أحسن طريقة لحل مثل هذا النوع من التمارين ، هو تناول كل جينين مع بعضهما ، كما يلى : بالنسبة للزوج AB ، يقسّم نسل التلقيح الاختبارى (مع تجاهل تركيب الكروموسوم المتنحى) إلى :

AB = ٢٠ + ٢٠ = ٤٠ } = ٨٠ أبوى
ab = ٢٠ + ٢٠ = ٤٠

Ab = ٥ + ٥ = ١٠ } = ٢٠ إتحادات جديدة
aB = ٥ + ٥ = ١٠

النسبة المئوية للاتحادات الجديدة = $\frac{٢٠ \times ١٠٠}{١٠٠}$ = ٢٠٪

∴ الجينان AB مرتبطان ، ويمكن رسم خريطة ارتباطية كالاتى :

A —— 20 —— B

وبالنسبة للزوج BD نجد أن :

BD = ٢٠ + ٥ = ٢٥ ⎫
bd = ٥ + ٢٠ = ٢٥ ⎭ = ٥٠ ، الجينان B و D ليسا مرتبطين وراثيا ، بالرغم من وقوعهما فى نفس الكروموسوم .

Bd = ٥ + ٢٠ = ٢٥ ⎫
bD = ٢٠ + ٥ = ٢٥ ⎭ = ٥٠

وبالنسبة للزوج AD نجد أن :

AD = ٢٠ + ٥ = ٢٥
ad = ٥ + ٢٠ = ٢٥
Ad = ٥ + ٢٠ = ٢٥
aD = ٢٠ + ٥ = ٢٥

الجينان A و D ليسا مرتبطين وراثيا ، بالرغم من وقوعهما فى نفس الكروموسوم .

النتائج تشير إلى أن الجينين A و B قريبان من بعضهما والمسافة بينهما ٢٠ وحدة خريطية ، والجين D بعيد جدا عن كل من B و A لدرجة تسمح بحدوث عبور فى ١٠٠ ٪ من الوحدات الثنائية أثناء الميوزى بينه وبين A و B بالرغم من أنه ذكر فى التمرين أن الجينات الثلاث تقع فى نفس الكروموسوم — إلا أن الأمر يتطلب وجود جين ثالث بين D و كل من A و B لقياس المسافة بينهما .

مسائل وتماريـــن

(١) فى القواقع ،لون الصدفة القرنفلى هو نتيجة للحالة الأصيلة لأى أو لكل من الجينين المتنحيين a و b ،ولون الصدفة البنى يعتمد على كل مـــن الجينين السائدين A و B . ذكور قواقع قرنفلية بالتركيب الوراثـى AABB لقحت اناثا قرنفلية بالتركيب الوراثى aabb ،وكان النسل مكونا من ٧١٠ فردا ،منها ١٢٥ كانت بنية و ٥٨٥ كانت قرنفلية ،والمطلوب الاتـــى :

(أ) ماهى النسبة المتوقعة لو كانت الجينات مستقلة التوزيع ؟

(ب) من البيانات السابقة ،ماهى النسبة المئوية للاتحادات الجديدة ؟

(جـ) هل الجينات مرتبطة ؟ اذا كانت كذلك ماهى المسافة الخريطيـــة ؟

(د) ماهى نسبة حدوث العبـــور فى الرباعيـــات؟

(٢) الخريطة الوراثية التالية تشمل خمسة جينات مسافاتها النسبية هـي :

a 8 b 6 c 10 d 4 e

هجين ثلاثي (AcE/aCe) لُقّح اختباريا مع المتنحى الثلاثى ، فـإذا كانت قيمة التداخل بين المواقع a-c-e هى ٤ر٠٪ إحسب نسب مئوية تكرارات الفئات الوراثية المحتملة فى النسل الناتج من هذا التهجين.

(٣) إذا كان الطول الخريطى لمجموعة ارتباطية فى كائن ما هو ١١٠ وحدة عبورية ، احسب متوسط عدد الكيازمات المتوقع للوحدة الثنائية bivalent لهذه المجموعة الارتباطية • وبفرض أنّ العدد الكروموسومى لهذا الكائن هو ٥ أزواج متساوية الطول ـ احسب العدد الكـلى للكيازمات الذى تتوقعة عند فحص خلية ميوزية فى الـطور التشتتى •

وراثة الخلايا الجسدية ورسم الخرائط الوراثية لجينات الانسان :

نظرا للطبيعة الخاصة للانسان فلايمكن تطبيق طرق التحليل الوراثى التى ذكرناها فى هذا الباب فى رسم خرائط الجينات الآدمية • وحتى حقبة السبعينات ، كان المصدر الأساسى لتحديد مواقع الجينات على الكروموسومات الآدمية ، هـو استعمال سجلات النسب المجمعة من عشائر آدمية مختلفة • ومع التقدم الهائـل الذى حدث فى البيولوجيا الجزيئية والهندسة الوراثية فى الربع الأخير من القـرن العشـرين ، فقد شيدت تقنيات حديثة مكنت علماء الوراثة من رسم الخرائط الوراثية لجينات الانسان بدرجة عالية من الدقة • وفيمايلى نعرض ملخصا لهـذه التقنيات والتى سوف نتناولها بالتفصيل فى الفصل الخاص بالهندسة الوراثيـة :

(١) تقنية تهجين الخلايا الجسدية للثدييات •

(٢) استخدام الطرق السيتوراثية الحديثة للتعرف على كروموسومات الانسان أو أجزاء محددة منها ، وخاصة تكنيك الشرائط المصبوغة بصبغة جيمزا Giemsa.

(٣) تقنيات الدنا Recombinant DNA techniques والتى تستخدم فى عزل مقاطع من دنا الانسان للتعرف على الجينات فى الكروموسومات الآدمية.

الباب الثامن

أسس رسم الخرائط الوراثية فى الكائنات بدائيات النوى

Genetic Mapping in Prokaryotes

مقدمة :

من المعروف أن الجهاز الوراثى لكل بكتريم أو فيروس يتكون من كروموسوم واحد فقط يشمل خيطا واحدا من الحمض النووى المكون له . وبناء على ذلك فاننا نتوقع أن تكون الهيئة الجينية (الجينوم) لكل من هذه الكائنات موجودة فى مجموعة ارتباطية واحدة . ونظراً للتقدم الكبير فى معرفة الطبيعة الجزيئية للكروموسوم البكتيرى أو الفيروسى ، فقد أمكن إلى حدٍ بعيد إيجاد تلازم بين التنظيم الوراثى والتنظيم الجزيئى للكروموسوم البكتيرى أو الفيروسى . ولما كان عدد الجينات الموجودة فى جينوم كل من هذه الكائنات محدوداً ، فإنّ حَصْرَ و ترتيب هذه الجينات أو معظمها أصبح أمراً سهلا . ولاتختلف كثيرا أُسُس توقيع الخرائط الوراثية فى بدائيات النوى عن مثيلتها فى الكائنات مميزات النوى . هذا وقد تم رسم خرائط وراثية لعديد من البكتريات مثل إ . كولاى وباسيلس ستلس وكذلك الفيروسات والفاجات ، مثل الفاج لامبدا والفاج ØX174 والفاج T4 منذ حقبة الخمسينات من هذا القرن .

أهمية رسم الخرائط الوراثية :

يمكن تلخيص أهمية رسم الخرائط الوراثية فى النقاط التالية :

(١) تمثل الخريطة الوراثية ملخصا شاملا للمعلومات الوراثية للكائن ، حيث يمكن حصر هذه المعلومات التى يحظى بها هذا الكائن بسهولة من هذه الخريطة .

(٢) يمكن بسهولة التعرف على الفراغات الموجودة على الخريطة ، والتى مازالت فعاليتها الوراثية غير محددة بعد .

(٣) تُمَكِّن الخريطة الوراثية من معرفة طريقة ترتيب الجينات فى الكروموسوم البكتيرى الدائرى ، وهل الكروموسوم الفيروسى دائرى circular أو طولى linear .

(٤) كل جين يُوَقَّع خريطيا يمكن تحديده بواسطة موقعه فى الكروموسوم . وهذه أفضل طريقة لتمييزه عن غيره من الجينات الأُخرى .

(٥) تُعْطِى الخريطة الوراثية إشارة إلى نوعية الطفرة التى حدثت فى الكروموسوم ، سواء أكانت اقتضابا deletion يستبعد عددا من الجينات أو طفرة موضعية فى نوتيدة واحدة داخل جين ما .

(٦) تساعد الخريطة الوراثية على تحديد ما إذا كانت طفرات ما مستقلة تؤثر فى الجين ذاته أو فى جينات مختلفة . وعلى سبيل المثال لو فُرِضَ أنّ لدينا خمس سلالات طافرة من فيروس ما أو بكتريم ما جميعها يحمل نفس المظهر فهل يعنى ذلك أنّ هذه السلالات تحمل طفرات حدثت فى نفس الجين أو فى جينات مختلفة . والطريقة المثلى للتميز بينها هى تحديد موقع كل طفرة على الخريطة الوراثية وهل المواقع متقاربة أم بعيدة عن بعضها على طول الكروموسوم .

وسوف نتناول فيما يلى الأُسس العامة لرسم الخرائط الوراثية فى كل من الفيروسات والبكتريات ، تاركين التفاصيل للمواجع المتخصصة :

أولا : رسم الخرائط الوراثية للفيروسات :

الطريقة العامة لرسم الخرائط الوراثية للفيروسات بواسطة تحليل الاتحادات الجديدة :

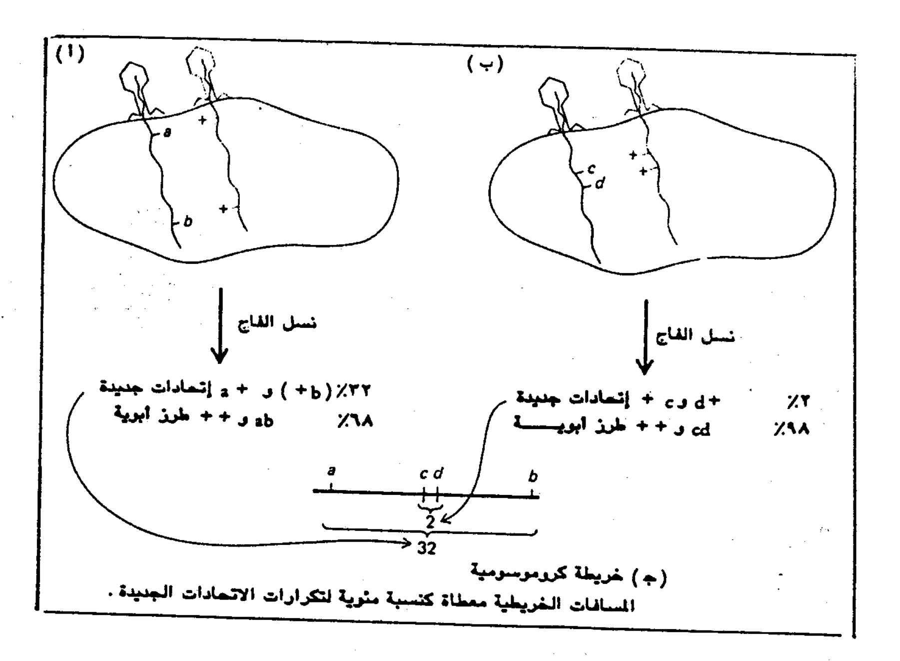
من الممكن أن يتعرّض بكتريم Bacterium ما إلى عدوى مختلطة من اثنين أو أكثر من البكتريوفاجات التى تحمل واسمات وراثية (g.markers) مختلفة (مثلا +a فى أحدهما و +b فى الآخر) • وخلال الدورة التحللية lytic cycle اللاحقة للعدوى قد تحدث تبادلات بين كروموسومى هذين الفاجين ، ويترتب على ذلك تكون توليفات وراثية جديدة recombinants (++) , (ab) فى نسل الفاجات المنطلقة من الخلية البكتيرية العائلة المتحللة • وتعرف عملية مماثلة تسمى "تخطى الاصابة Trans-infection" حيث فيها تُجْبَر الخلايا البكتيرية المعاملة بطريقة خاصة على إلتقاط نُسَخ "عارية naked " من كروموسومات الفاجات الموسومة دون الحاجة الى استعمال جهاز الحقن الخاص بالفاج • وهذه الكروموسومات الفاجية تستمر فى التناسخ وتكوين الاتحادات الجديدة بداخل العائل •

الاُسس المُحَدِّدَة لرسم خرائط الفاجات : (أنظر الشكل ٨ـ١)

يمكن تلخيص هذه الاُسس فى النقاط التالية :

(١) قد تحدث التبادلات الوراثية بين الكروموسومات الفاجية المختلفة بتكرارات متقاربة عند جميع النقاط بطول كروموسوم ما •

(٢) كلما بعدت المسافة بين جينات معينة على نفس الكروموسوم ، كلما ازداد احتمال تفريقها عن بعضها البعض بواسطة تبادلات وراثية ، والعكس صحيح (انظر الشكل ٨ـ١) •



شكل (٨ـ١) :الأسس العامة لرسم الخرائط الوراثية للفيروســـات•

(أ) واسمان وراثيان بعيدان عن بعضهما ،نسبة الاتحادات الجديدة مرتفعـــــة •

(ب) واسمان وراثيان قريبان من بعضهما ،نسبة الاتحادات الجديد تضئيلة .

تحليل تلقيحات الفاج لامبدا λ-Phage:

سوف نعرض طريقة بناء الخريطة الوراثية للفاج لامبدا كمثال على كيفيــــة رسم الخرائط الوراثية الفيروسيـــــــة •

قام العالم كيزر(Kaiser ١٩٥٥) باختيار سلالة برية الطراز من الغـــاج لامبدا ،نرمز لها بـــ + + + + + ،وقد حصل منها على خمس سلالات طافــرة وذلك بتعريضها للأشعة ما فوق البنفسجية ،حيث أعطت كل سلالة طافرة طرازا مختلفا من أشكال البقع المكونة لمستعمرات بكتريا إ •كولاى المصابة بالفاج λ،كمـا يتضح مما يـــــلى :

(١) السلالة s (صغيرة small) تكون بقعة صغيرة لمستعمرة إ ٠كولاى على طبق بكتري ٠

(٢) السلالة mi (مُصَغَّرة miniature) ،حيث تكوّن خلايا إ ٠كولاى المصابة بها مستعمرة مُصَغَّرة نسبيا ٠

(٣) السلالة c (رائق clear) ،حيث تتكون مستعمرة من إ ٠كولاى على شكل بقعة رائقة تماما ٠

(٤) السلالة co1 (محلقة cocardel) ،حيث تتكون مستعمرة من إ ٠كولاى رائقة تماما بداخل مركزها حلقة من مستعمرات صغيرة ٠

(٥) السلالة co2 (محلقة طراز 2) ،حيث تتكون بقعة لها حلقة مركزية أكثر كثافة من الطراز co1 .

وقبل استعمال هذه الطوافر في رسم الخريطة الوراثية لهذا الكائن قام كيزر ومعاونوه بفحصها بدقة للتأكد من أن الجينات الواسمة التي تحملها تكون مناسبة لرسم الخريطة ،ويعتمد ذلك على خمس ظواهر عامة بغض النظر عن نوعية الكائن ،وهي :

(١) يجب أن تكون المظاهر الطافرة مميزة بوضوح عن الطراز البري ،وكذلك مميزة عن بعضها البعض بحيث يمكن تصنيف نسل كل منها بسهولة ٠

(٢) يجب أن يكون لكل سلالة طافرة شكل مظهري يعتمد عليه لتحاشي أي التباس في التصنيف ،فمثلا في البكتريوفاجات يمكن انتخاب طفرة ما ذات تعبير مظهري لا يعتمد بدرجة كبيرة على عمر البكتريات في السطح أو على كمية الرطوبة في بيئة التنمية ٠

(٣) يجب أن يكون في مقدور كل سلالة أن تكاثر نفسها بطريقة نموذجية بنفس كفاءة الطراز البري ٠ فمثلا بالنسبة للفيروسات يجب أن يكون حجم الانطلاق ،

أى أعداد النسل المنطلقة من بكتريم واحد مصاب بفاج واحد عقب الدورة التحللية مساويا لكلّ من السلالة البرية والسلالات الطافرة • وهذا الشرط ــ يُؤَمِّن ــ خلال عدوى مختلطة ــ وجود أعداد متوازية من كلا الطرازين من الكروموسومات بداخل الخلية • ويمثل هذا الشرط عاملا هاما لحدوث التبادلات بين الكروموسومات الفيروسية بتكرارات متناسقة.

(٤) يجب أن يكون معدل ارتداد الجين الطافر الواسم منخفضاً بدرجة كبيرة (مثلا معدل ارتداد الطافر mi هو ١×١٠^{-٤} ــ $١٠^{-٥}$ الى الطراز البرى مما يجعله مناسباً جدا لغرض رسم الخرائط) •

(٥) يجب أن تكون كل سلالة طافرة مختلفة فى طفرة واحدة فقط مختلفة عن الطوافر الأخرى و عن السلالة البرية •

خطوات رسم خرائط الفاج : Single gene crosses

(١) التهجينات وحيدة الجين :

يُسْمَح لطرازين من الفاج أحدهما برى (+) والآخر طافر بإصابة مُعَلَّقَين من خلايا إ •كولاى (أو غيرها من البكتريات) • وعلى سبيل المثال يُلَقَّح الطراز البرى للفاج لامبدا (λ) مع الطراز الطافر (s) (صغير) وبذلك يصبح التلقيح هو : (s x +) • بعد ذلك يتم تعديل للاصابة بحيث يُعَرَّض مُعَلَّق كثيف من الخلايا البكتيرية لمُعَلَّق أكثر كثافة من كلا طرازى الفاج • وفى المتوسط يكفى عشرة جسيمات فاجية (خمسة من كل طراز) لإحداث العدوى للخلية البكتيرية الواحدة • وبمعنى آخر يتم تعديل تعدد العدوى بحيث تكون حوالى ١٠ ، ($١٠^{٩}$ فاجات لكل حوالى $١٠^{٨}$ بكتريات موجودة فى المعلق فى آن

واحد) • بعد ذلك يسمح للفاج بالتكاثر حتى يحدث التحلل ،ثم يُخفف نسل الفاجات في ناتج التحلل إلى تركيزات ملائمة للنشر على مسطحات البكتريا ،ثم تُحصى أشكال البقع المتكونة على انفراد • ويبين الجدول (٨–١) ملخصا للنتائج التي تحصل عليها كيزر Kaiser (١٩٥٥) :

جدول (٨–١) : ملخص لنتائج تلقيحات طرز الفاج لامبدا (λ) التي تحصل عليها كيزر عام ١٩٥٥•

الآباء	النسل		النسبة (تقريبا)
	طافر	برى	
s x +	2050 s	2340 +	1 : 1
co_1 x +	761 co_1	707 +	1 : 1
mi x +	923 mi	736 +	1 : 1
c x +	5900 c	6600 +	1 : 1
co_2 x +	2100 co_2	1500 +	1 : 1

من البيانات الموضحة في الجدول (٨–١) لم تُكتشف أيّة مظاهر أخرى للبقع بخلاف المحددة بالطوافر والطراز البرى • وتشير البيانات الى الانعزال باعداد متساوية تقريبا (١:١) • ومن ثمّ فانّ تلقيحات العامل الواحد تشير إلى أنّ كلا من السلالات الطافرة الخمس تختلف في جين واحد فقط عن الطراز البرى •

(٢) التهجينات ثنائية الجين : Digenic crosses

كما هو الحال فى الكائنات ميزات النوى ، يمكن أن تجرى التهجينات فى الفاجات بنظامين ، النظام التجاذبى Coupling وفيه يُهَجّن أحد الأبوين ويكون طافرا مزدوجا (ab مثلا) مع الأب الآخر ويكون حاملا للأليلى الطراز البرى (++) ، أو بالنظام التنافرى Repulsion وفيه يكون أحد الأبوين حاملا لطفرة واسمة واحدة من الجينين تحت الدراسة والأليل البرى للجين الثانى ، ويكون الأب الآخر عكسه (أى +a و +b) ، كما يتضح من الرسم التالى:

تلقيح تجاذبى				تلقيح تنافرى			
أب طافر مزدوج ab	x	أب برى ++		أب طافر مفرد a+	x	أب طافر مفرد +b	
النسل : ab	a+	+b	++	a+	ab	++	+b
أبوى	اتحادات جديدة	اتحادات جديدة	أبوى	أبوى	اتحادات جديدة	اتحادات جديدة	أبوى

$$\text{نسبة الاتحادات الجديدة (R)} = \frac{\text{إجمالى طرازى الاتحادات الجديدة}}{\text{إجمالى جميع الطرز}} \times ١٠٠$$

أجرى كيزر تهجينات من ذوات العاملين بنظام تنافرى ثم عزل بعد ذلك بعض النسل مزدوج الطفرة وهو من الاتحادات الجديدة وقام بتهجين بعضا من هذا النسل للحصول على بيانات التهجينات بالنظام التجاذبى . وبفحص البيانات الموضحة فى الجدول (٨-٢) نجد البيانات الناتجة من ثلاثة تهجينات منفصلة (co_1+x+mi) وتهجينين منفصلين (++ x co_1 mi).
وبحساب نسبة الاتحادات الجديدة (R) بين co_1 و mi نجد أن

جـــدول (٨ ـ ٢) :

التلقيحات ذوات العاملين الخاصة بالفاج لامبدا .

أعطيت ـ مقابل كل تلقيح ـ أعداد بقع النسل مصنفة تبعا للتركيب الجيني . نسبة الاتحادات الجديدة تقدر بـ

$$\frac{\text{إجمالي طرازي الاتحادات الجديدة}}{\text{إجمالي جميع الطرز}} \times ١٠٠$$

أعطيت في الجزء الأعلى من الجدول أمثلة عديدة لنفس التلقيح لتوضح حجم الاختلافات بين التجارب . أما في الأجزاء السفلى فقد أعطيت الأعداد الاجمالية المتحصل عليها فقط من جمع بيانات التجارب المفردة .

الآباء	عدد التجارب	النسل				الاتحادات الجديدة %
co_1 + × + *mi*	1	5162 co +	6510 + *mi*	311 + +	341 co *mi*	5.3
	1	459	398	17	25	4.7
	1	720	672	44	46	6.1
co_1 *mi* × + +	1	36	30	795	620	4.4
	1	74	56	1005	956	6.2
s + × + co_1	2	7101 s +	5851 + co	145 + +	169 s co	2.4
s co_1 × + +	2	46	53	1615	1774	2.8
s + × + *mi*	1	647 s +	502 + *mi*	65 + +	56 s *mi*	9.5
s *mi* × + +	3	1024	1155	13083	13253	7.6
s + × + c	1	808 s +	566 + c	19 + +	20 s c	2.8
c + × + *mi*	1	1213 c +	1205 + *mi*	84 + +	75 c *mi*	6.2
c + × + co_1	3	6000 c +	6000 + co	14 + +	— c co[a]	0.1
co_2 + × + *mi*	1	1477 co_2 +	1949 + *mi*	109 + +	131 co_2 *mi*	6.6

(a) الطراز c co غير مميز من الطراز (+c)

(من A.D. Kaiser, Virology 1 : 424 (1955)).

$$= R_{co1.mi}$$

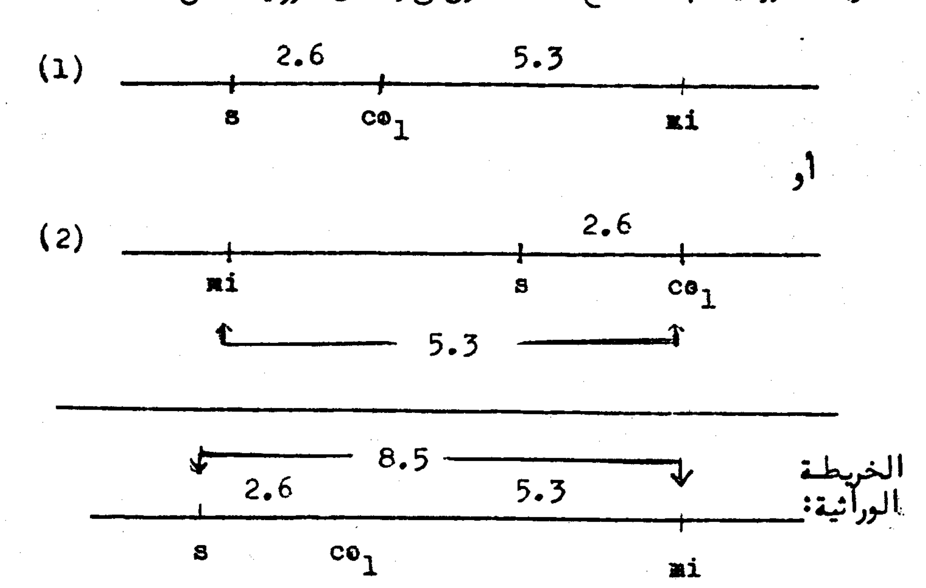
$$= \frac{٣١١ + ٣٤١}{٥١٦٢ + ٦٥١٠ + ٣١١ + ٣٤١} \times ١٠٠ = \frac{٦٥٢}{١٢٣٢٤} \times ١٠٠$$

$$= ٠٫٠٥٣ \times ١٠٠$$

= ٣ر٥ وحـــدة خريطية

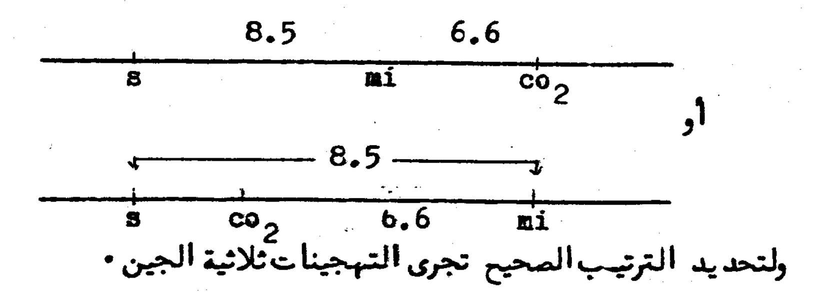
وتبين هذه القيمة أن الجينين mi, co_1 ينفصلان بنسبة ٥٪ لتكويـــن الاتحـــادات الجديـــــدة ٠

كما يبين الجزء الثانى من البيانات أن نسبة الاتحادات الجديدة بيـــن s, co_1 قد حدثت بتكرار حوالى ٦ر٢٪ ،ومن ثم فعلاقات الارتباط علـــى الخريطة الوراثية لهذا الفاج (λ) تكون فى إحدى صورتيـــن :



ويبين الجزء الثالث من الجدول (٨ــ٢) أن نسبة الاتحادات الجديـدة بين الواسمين s , mi هى حوالى ٥ر٨٪ ،مما يوحى بأن الجين co_1 يقـع بين الجينين s و mi على الخريطة الوراثية للفـــاج ٠

وباستعراض بقية بيانات الجدول (٨ــ٢) يمكن رسم الخريطة التاليـــة :



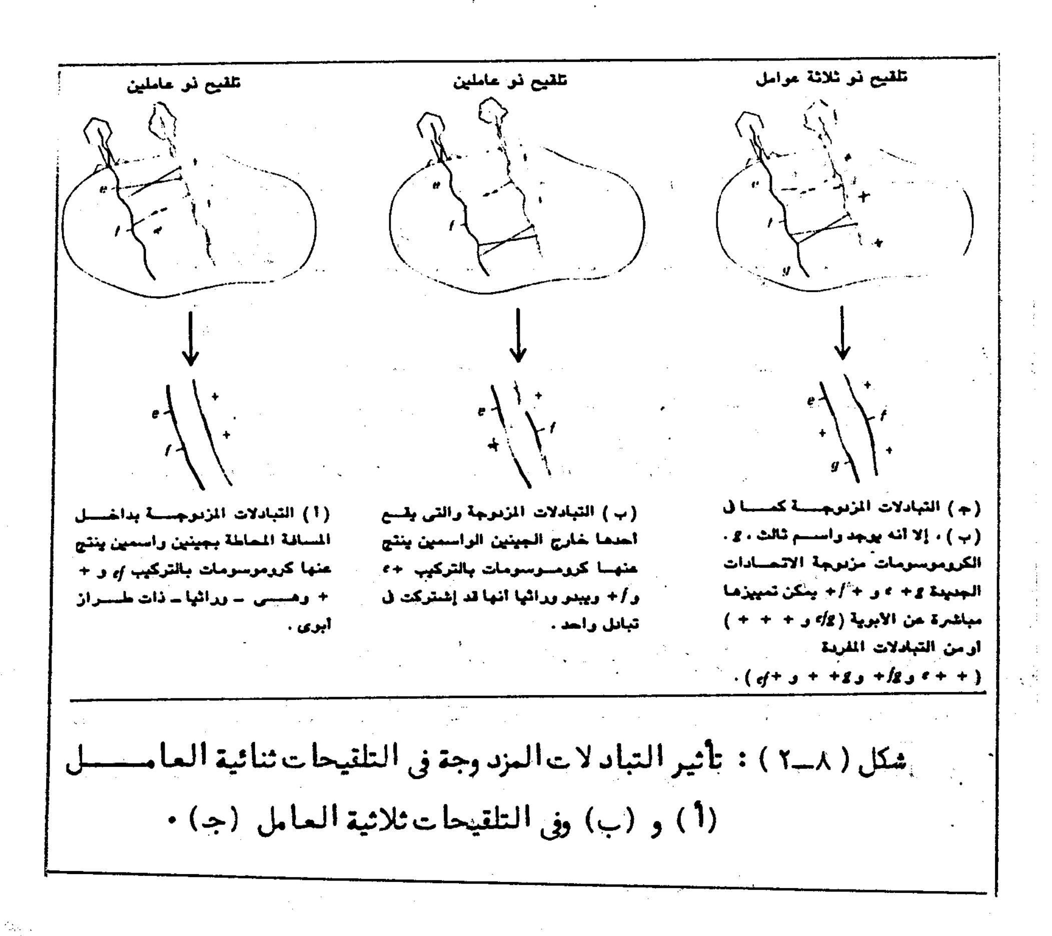
ولتحديد الترتيب الصحيح تجرى التهجينات ثلاثية الجين •

(٣) التهجينات ثلاثية الجيـــن : Trigenic crosses

فى حالة التهجينات ثلاثية العامل تُوسَم الفاجات بواسطة ثلاث صفـات، ويمكن الحصول على الفاجات الحاملة للثلاث طفرات بواسطة التلقيحات ثنائيـــة العامل مزدوجة الطفرة مع سلالات مفردة الطفرة ثم تعزل من النسل الاتحادات الجديدة • ويوجد نظامان للتلقيحات ثلاثية العامـــــل :

(١) $(s\ co_1 mi) x (+ + +)$ أو (٢) $(s + mi)\ x\ (+\ co_1 +)$

ويمكن اتباع نفس الأساليب السابق الاشارة إليها ،مع إضافة اعتبار إضافى وهو حدوث تبادلات مزدوجة يشترك فيها كروموسومان فى تبادلين فى آن واحد • ولربما فى حالات تهجينات العامل الواحد والعاملين قد تحدث تبادلات مزدوجة أو أكثر ،لكن لايمكن اكتشاف ذلك الا بِوَسْم المناطق بين الجينـــــات بواسمات إضافية (أنظر الشكل ٨ــ٢) :



شكل (٨ــ٢) : تأثير التبادلات المزدوجة فى التلقيحات ثنائية العامل (أ) و (ب) وفى التلقيحات ثلاثية العامل (جـ) .

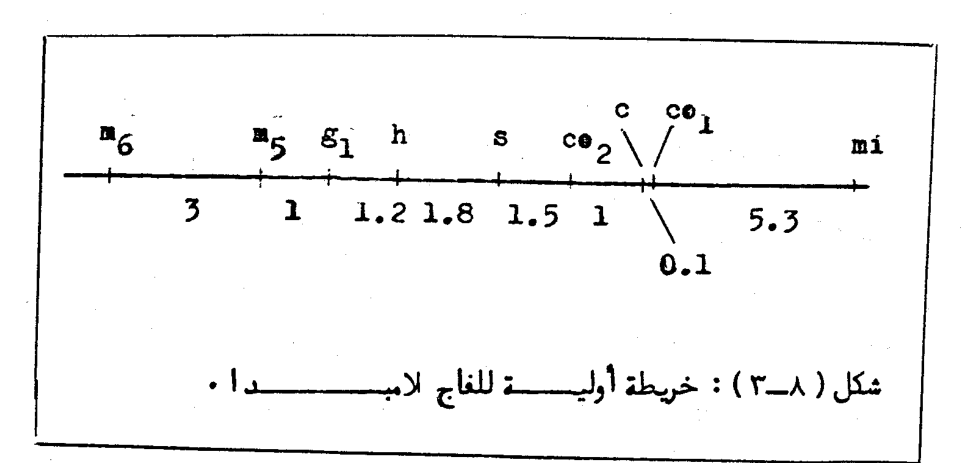
ولتمييز الاتحادات الوراثية الجديدة الناتجة من التبادلات الكروموسومية المزدوجة يلزم أن نتتبع السلوك الوراثى لثلاثة واسمات على الاقل . ففى التلقيح (+ + +)x(e f g) تكون الاتحادات الجديدة المزدوجة هى (+ f +) و (e + g) ، وهذه يمكن تمييزها مباشرة من الاتحادات الجديدة مفردة العبور وكذلك من النسل الابوى (أنظر الشكل ٨ــ٢) .

وبافتراض أن أى حدث تبادلى عند أية نقطة فى الكروموسوم يكون مستقلا عن

أى حدث آخر ،فانه يمكن تطبيق نظرية الاحتمال للحدث المركب الناتج من الاحداث البسيطة المستقلة وذلك لحساب فئات العبور المزدوج المتوقعة • فعلى سبيل المثال ،لو كان تكرار الاتحادات الجديدة بين الجينين a و b هو ٠٫٠٥ ،وتكرار الاتحادات الجديدة بين الجينين c و b هو ٠٫٠٣ ، فطبقا لقاعدة الاحتمال المركب فان الاحتمال المتوقع لحدوث تبادلين فى آن واحد ما بين الجينين a و c هو (٠٫٠٥)(٠٫٠٣) = ٠٫٠٠١٥ (أى أن R=٠٫١٥%) وطبقا لذلك ففى تلقيحات العوامل الثلاثة تمثل الفئتان الأكثر ندرة ،فئتى العبور المزدوج ،كما هو الحال فى الكائنات مميزات النوى •

ولاتختلف طريقة التحليل الوراثى ورسم الخريطة الوراثية للفاج عن الاسلوب المتبع فى تلقيحات العوامل الثلاثية للكائنات مميزات النوى (أنظر الباب السابع) •

ويوضح الشكل (٨ــ٣) مخططا لخريطة أولية لكروموسوم الفاج لامبدا (λ) كما وصفها كيزر عام ١٩٥٥•



شكل (٨ــ٣) : خريطة أولية للفاج لامبدا •

ثانيا : رسم الخرائط الوراثية فى البكتريـــات:

Mapping Bacterial Chromosomes

مقدمة : من المعروف أن كمية الـ د ن أ فى الخلية البكتيرية قد تبلغ ألف ضعـــف أو أكثر عن كمية الـ د ن أ الموجودة فى الفاجات . وكما سبق أن ذكرنا فان الـ د ن أ فى بكتريم ما يوجد معظمه فى صورة كروموسوم دائرى وحيد وكذلك القليل منه فـى صورة بلازميدات (أنظر الباب الرابع) . ويمكن تلخيص انتقال الـ د ن أ البكتيـرى من فرد إلى آخر فى الميكانيكيـــات التاليـــــة :

(١) التزاوج (من خلال قناة جنسيـــة) Conjugation .

(٢) التحـول Transformation .

(٣) الاستتقال) (النقل الوراثى بالفاج) Transduction .

وبالرغم من أننا قد تناولنا هذه الأنظمة من وجهة النظر الجزيئيــــة (الباب الثانى) ، إلا أننا هنا سوف نتناولها من الناحية الوراثية كوسائـــل لانتقال الجينات وتوقيع الخرائط الوراثية البكتيريــــة .

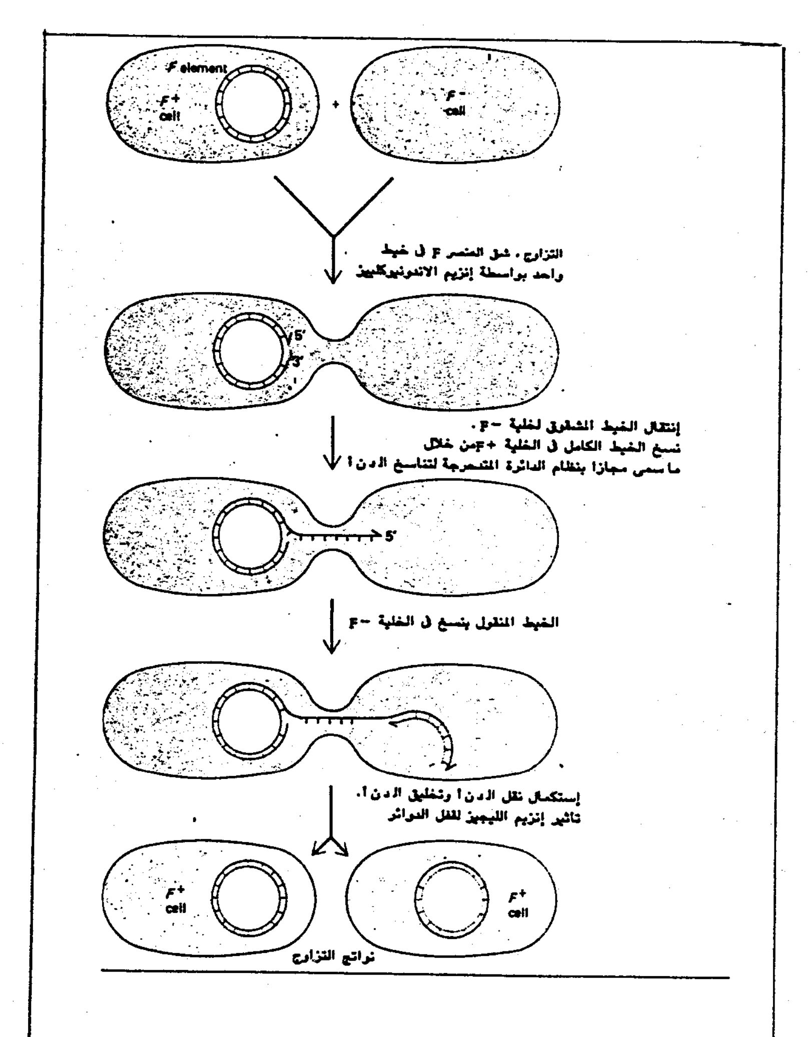
التزاوج البكتيـــرى : Bacterial Conjugation

من المعروف أن البلازميد F (أو العنصر F) يلعب دورا رئيسيا فـى خاصية الجنس فى البكتريا . وتسمى خلايا إ .كولاى التى تحمل العنصـــر F باسم خلايا F^+ (أو مجازا ذكر إ .كولاى) ، وهذه الخلايا توجد بتكرار محدود فى عشائر إ .كولاى . ويعرف حتى الآن حوالى ١٥ جينا محمولة فى العنصـــر F منها حوالى ٩ جينات تسيطر على تكوين قنوات التزاوج Pili وهى عبـــارة عن زوائد طويلة تمتد من سطح الخلية F^+ (الباب الرابع ، شكـــل ٤ — ٨) .

وعند ما تقابل خلية إ ٠كولاى من الطراز F^+ خلية أخرى من نفس الطراز فلا يحدث بينهما تجاذب عادة ،فى حين يتـم الاتصال باحتمال أكبر عن طريق قنـاة التزاوج مع خلية F^- • وتتحوّر هذه القناة لتُستخدم كممر بروتوبلازمى يصل بين الخليتين المتزاوجتين وتسمى "أنبوب التزاوج " • وتحت الظروف العاديـة يكون العنصر F^+ هو العنصر الوراثى الوحيد الذى ينتقل خلال أنبوب التزاوج. وعند ما تُخلَط خلايا F^+ مع عشيرة من الخلايا F^- ، فإنّ كل خلية F^+ واهبـة ستُمرّر نُسخَة من العنصر F إلى الخلية المستقبلة F^- (والمساة مجازا أنـثى إ ٠كولاى) ،فى حين تظل كل خلية F^+ محتفظة بنسخة واحدة من F^+ على الاقل، وبمرور الوقت تصبح كل خلايا العشيرة المختلطة خلايـا F^+ .

ميكانيكية الحلقة المتدحرجة Rolling circle لانتقال عنصر الجنـس F :

يُعتَقَد أنّ إنتقال العنصر F من خلية واهبة doner إلى خليـة مستقبلة recepient يتم من خلال ميكانيكية لتناسخ الدنا تعرف باسـم ميكانيكية "الحلقة المتدحرجة Roll. circle (الشكل ٨ــ٤) ،حيث يُعتَقد أنّ الطرف ٥َ من خيط واحد من دنا العنصر F يسحب بداخل الخليـة المستقبلة ويتم استنساخه فى الاتجاه ٥َ ← ٣َ ، فى حين يبقى الخيط القرين فى الخلية الواهبة ليعمل كقالب template لغاف يتناسخ ذاتيا • وقـد يندمج العنصر F فى الكروموسوم الرئيسى للخلية البكتيرية ولكن بمعدل قليـل جدا (حوالى ١ × ١٠^٥ من كل عشيرة من الخلايا F^+) ،وهذا الاندماج يسمـح بانتقال نُسخة من الكروموسوم الرئيسى ،بدلا من العنصر F ذاته ،خلال أنبـوب التزاوج من الواهب إلى المستقبل (أنظر الشكل ٨ــ٥) •



شكل (٨ـ٤) : رسم تخطيطى لانتقال العنصر F مـــن خلال ميكانيكية الحلقة المتدحرجـــــة .

اندماج العنصر F وتكوين خلايا Hfr وانتقال الكروموسوم البكتيـــرى :

كما هو موضح فى الشكل ٨ـ٥ يمكن تلخيص عملية انتقال الكروموســـوم البكتيرى من الخلية الواهبة الى الخلية المستقبلة فى الخطوات التاليـــة :

(١) يُولِج العنصر F نفسه داخل الكروموسوم البكتيرى الرئيسى ، وتـــؤدى عملية الايلاج إلى كسر العنصر F الدائرى عند نقطة معينة ليصبـــح مقطعا خيطيا من الكروموسوم الرئيسى (الشكل ٨ـ٥ أ) .

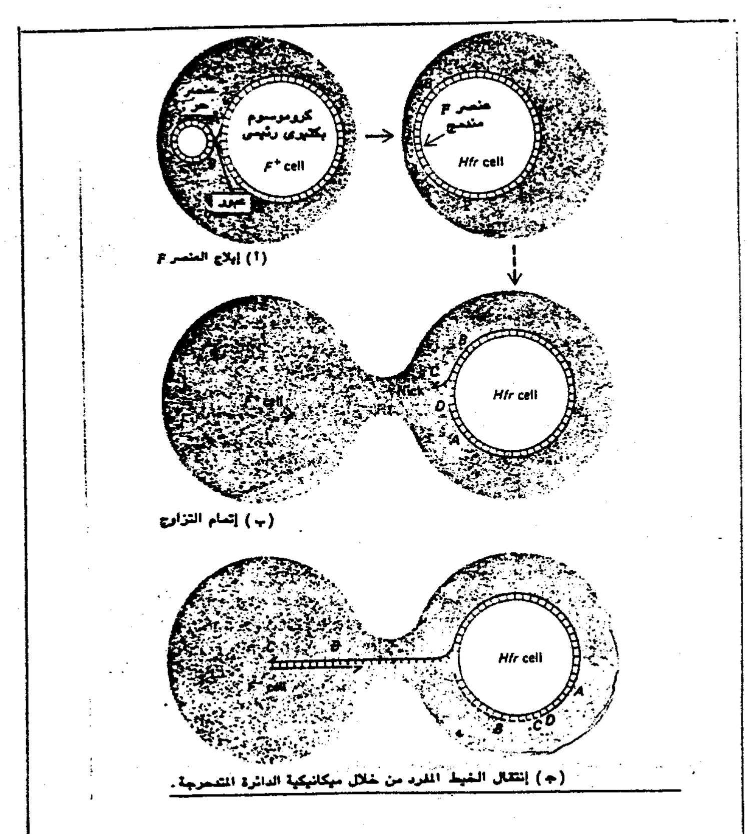
(٢) عقب الاندماج تتحول هذه الخلية الى خلية طراز Hfr (أنظر الباب الرابع).

وفى هذه الحالة يتناسخ العنصر F مع تناسخ الكروموسوم البكتيرى (شأنـــه شأن البروفاج لامبدا λ) وينتقل معه من جيل إلى آخر ، ويسلك كأنه مقطـــع عادى من هذا الكروموســـوم .

(٣) عندما تبدأ عملية التزاوج conjugation ، يصبح جهاز التناسخ للعنصر F نشطا ويقـــوم بشق الدنا الخاص به عند خيط مفرد واحد (الشكل ٨ـ٥ب) ، ويُسْحَب الطرف ٥َ من الخيط المشقوق الى داخل أنبـــوب التزاوج بواسطة القوة الدافعة لنظام الحلقة المتدحرجة لتناسخ الدنا (الشكل ٨ـ٥ج) ، ويترتب على ذلك أن يُسْحب خيط واحد من هـــذا الكروموسوم الى داخل الخلية F^- (الشكل ٨ـ٥ج) ، ويتناسخ هـــذا الخيط فى الاتجاه ٥َ ←٣َ ، بينما هو مستمر فى الدخول فى الخليـــة المستقبلـــة F^-.

التحليل الوراثى لعملية انتقال الكروموسوم البكتيرى :

كما يتضح من الشكل (٨ـ٥) تم وَسْمُ العنصر F بعدد من الجينـــات



شكل (٨ـ٥) : مخطط يوضح انتقال كروموسوم بكتيـــــرى مندمج به العنصر F (خلية Hfr) من خلال ميكانيكية الدائرة المتدحرجـــة •

الغرضية ولتكن A, B,C, D • وحدث الشق الخاص بالتناسخ ما بين الجينين الواسمين C و D • وهذا يعنى أنّ العنصر F لابد وأن ينشق أثناء الانتقال وأنّ عددا من جيناته تدخل إلى الخلية F^- عند بداية عملية التزاوج • أما بقية جينات هذا العنصر فسوف تنتقل إلى الخلية المستقبلة فقط بعد مرور حوالى ١٢٠٠ ميكرون من الدنا الكروموسومى خلال أنبوب التزاوج • وعادة قد ينكسر الكروموسوم الداخل عند موضع وسطى خلال عملية الانتقال ،لذلك فإنّ الخلية F^- المُستقبِلة تَرِثُ عادة نُسخةً غير كاملة من العنصر F خلال التزاوج (F^-x Hfr) ،لكنها تبقى F^- (بالمقارنة بالتزاوج $F^- \times F^+$ ،والذى تتحول فيه خلية F^- إلى خلية F^+) • أما لو تم انتقال الكروموسوم مفرد الخيط بأكمله ،عندئذ سوف تَرِثُ الخلية العنصر F كلية وتَرِثُ معه خاصية الـHfr ،وفى هذه الحالة سوف يسلك نسل هذه الخلية سلوكا مماثلا للخلايا Hfr الطبيعية •

وتسمى الخلية F^- التى استقبلت جزءا فقط من الكروموسوم الداخل باسم "الزيجوت الجزئى أو الميروزيجوت Merozygote وفى بداية العملية يكون الميروزيجوت ثنائى التركيب الوراثى للجينات التى تم انتقالها • ولاتظل الخلية ثنائية ،وبدلا من ذلك ،فهى تلعب دورا هاما فى التبادلات الوراثية ، حيث أنّ بعض الدنا الموهوب يصبح محتوى فى كروموسوم الخلية المستقبلة • وبعد ذلك تُفْقَد جميع شظايا الدنا غير المندمجة من نُسَيْلَة الخلية فى عدة انقسامات متتالية ،ويظهر المزرعة البكتيرية وكأنها أحادية •

وعند ما تكون كروموسومات الواهب والمستقبل حاملة لواسمات وراثية مختلفة ،تكون الخلايا الناتجة عادة ذات توليفات وراثية جديدة • وهذا هو السبب فى كون الخلايا القادرة على العطاء للمادة الوراثية تسمى Hfr (أى ذات التكرار العالى للاتحادات الجديدة High frequency recombination.

استخدام التزاوج البكتيرى فى رسم الخرائط الوراثيـــة :

مقدمـــة :

يعتبر العلماء هييز ،جاكوب ،ليدربيرج و وولمان مـــن أوائـــل علماء الوراثة الميكروبية الذين أوضحوا سِمَات التزاوج الجنسى فى البكتريـــات فـــى حقبة الخمسينات من هذا القرن . ولقد بيّنت الدراسات العديدة التى أجروها تكوّن نسل بتوليفات وراثية جديدة عندما تتلاقح خلايا ذات طراز Hfr بتركيب وراثى معين مع خلايا F^- بتركيب وراثى متفـــارق .

تهجين جاكوب ــ وولمان :

فى هذا التهجين كانت السلالة Hfr والسلالة F^- المستعملتان تتسمان بالفينوتـايب والجينوتايب التالـــى :

السـلالة $Hfr(F^+)$

١ــ قادرة على تخليق الحمضين الأمينين ثريونين وليوسين	thr^+leu^+
٢ــ حساسة لمثبط الأيض "أزايد الصوديـــوم"	azi-s
٣ــ حساسة للفـــاج T_1	T_1-s
٤ــ قادرة على تخمير اللاكتوز والجالاكتوز والجلوكـــوز	$lac^+gal^+glu^+$
٥ــ حساسة للمضاد الحيوى ســتربيتومايسيـــن	str-s

السلالة F^- (تحمل التركيب الوراثى التكاملـــى)

thr^-leu^-azi-r T_1-r $lac^-gal^-glu^-$ str-r

ولقد تم خلط طرازى الخلايا وسمح لهما بالتزاوج لمدة ٦٠ دقيقة ،ثم زرعت

الخلايا على مستنبتات وسُمح لها بالنمو ،وفيما يلى نتائج تجربة جاكوب-وولمان:

(١) أولا ،زُرعت خلايا المخلوط فى مستنبت حَدّى يحتوى على المضاد الحيوى "ستربتومايسين" ،وذلك لقتل جميع الخلايا Hfr غير المتزاوجة وذلك لحساسيتها لهذا المضاد الحيوى . كما أنّ الخلايا ذات العَوَز للثريونين أو الليوسين $thr^{-}leu^{-}$ بما فيها خلايا F^{-} غير المتزاوجة لايمكنها النمو . بينما تنمو الخلايا F^{-} ذات التوليفات الوراثية الجديدة $str\text{-}r\ thr^{+}\ leu^{+}$. ولقد وُجد أنّ هذه الخلايا تظهر بتكرارات عالية جدا قُدّرت بحوالى ١٠٪ من الخلايا المزروعة .

وتدل هذه النتيجة على حدوث تبادل وراثى بتكرار عال بين الجينين الواسمين $thr^{+}leu^{+}$ الاتيين من الابُ الواهب Hfr والجين الواسم str-r الاتى من الابُ المستقبل F^{-} ،مما يشير الى أنهما مرتبطان عن بعد عن الجين str .

(٢) ثانيا ،تم تحديد التراكيب الوراثية ذوات التوليفات الوراثية thr^{+}- $leu^{+}str\text{-}r$ مع باقى الجينات الواسمة ،ووجد من بين هذه الاتحادات الجديدة أنّ ٩٠٪ منها يحمل الواسم azi-s الاتى من الابُ الواهب Hfr ،وكان ٨٠٪ منها يحمل الواسم T_1-s و٤٠٪ حامل للواسم lac^{+} و٢٥٪ منها حامل للواسم gal^{+}.

رسم الخرائط الوراثية البكتيرية بواسطة التزاوج المتقطع:

Mapping Bacterial Genes by Interrupted Mating

عقب التجارب الاوُلية التى أجراها كل من جاكوب و وولمان ،قاما بترسيخ القواعد الوراثية لانتقال كروموسوم بكتيرى Hfr إلى خلية F^{-} وذلك باستعمال

تكتنيك "التزاوج المتقطع Interrupted mating " ،فقد سمحا لخلايا Hfr و F^- لها نفس التراكيب الجينية السابق الاشارة اليها فى الجزء السابق بالتزاوج . وعقب فترات زمنية محددة ،أخذت عينات من المخلوط الخلوى وتم رجها فى خلاط وارنج Waring Blender حتى تنفصل الخلايا المتزاوجة . وبذلك أمكنهما الحصول على عينات تزاوجت لفترات ٥ دقائق و ١٠ دقائق و ١٥ دقيقة وهكذا . وبعد ذلك تم زرع كل عينة على مستنبت به بيئة دنيا (minimal) مزودة بالمضاد الحيوى ستربتومايسين وذلك لانتخاب خلايا F^- ذات توليفات وراثية جديدة تركيبها thr^+leu^+str-r . ومن خلال عمليات الزرع الملائمة تم تحديد التراكيب الوراثية الكاملة لهذه الخلايا المنتخبة . ويعرض الشكل (٨ـ٦) نتائج تجارب جاكوب ـ وولمان والتى نلخصها فيما يلى :

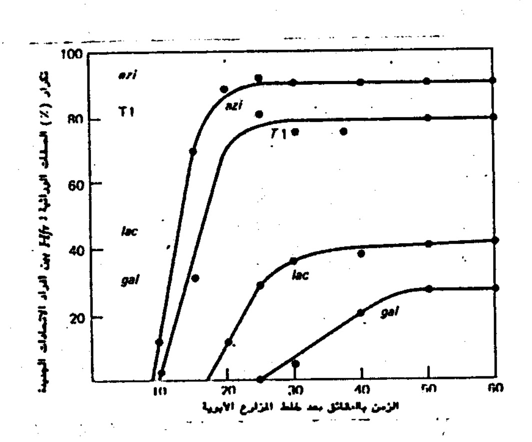
(١) يلاحظ أن الجين azi-s غير المنتخب له لا يتم انتقاله بالمرة خلال الدقائق التسع الأولى من التزاوج ،بعدها ينتقل مباشرة .

(٢) يظهر الواسم T_1-s فى الاتحادات الجديدة عند ١٠ دقائق .

(٣) يظهر الواسم lac^+ بعد حوالى ١٨ دقيقة .

(٤) يظهر الموقع الجينى gal بعد مرور ٢٥ دقيقة .

وأسهل طريقة لتفسير هذه النتائج هو أن نرسم الكروموسوم الواهب على شكل سهم (thr^+, leu^+) ،حيث يشير رأس السهم إلى بداية دخول الكروموسوم Hfr ،ويفترض أن هذا الكروموسوم يتحرك بداخل المستقبل بشكل خيطى منظم . وحيث أن الموقع azi-s يبدأ دخوله الى الخلايا بعد وقت قصير من دخول المواقع thr^+ leu^+ و الجين gal^+ لا يدخل إلا بعد ١٦ دقيقة إضافية ؛ لذلك يمكن استنتاج أن azi-s يقع أكثر قربا من المواقع thr^+ leu^+ عن الموقع gal^+ ، وبنفس الأسلوب يمكن ترتيب الجينات



شكل (٨ـ٦) : معدل انتقال الجينات الواسمة غير المنتخب لها (gal, lac, T_1, azi) من الواهب من بين الاتحادات الجديدة لـ F^- المنتخبة للجينات $str\text{-}r, leu^+thr^+$ عقب اجراء تجربة تــــزاوج متقطع . البلاتوهات توضح تكرار الانتقــال لمستوى معين لكـــل جين ،وهذا مرادف لمعدل التوقف التلقائى الملاحظ لكل واسم من تجارب تزاوج غيـــر متقطـــــع .

فى الكروموسوم الواهب كالاتى :

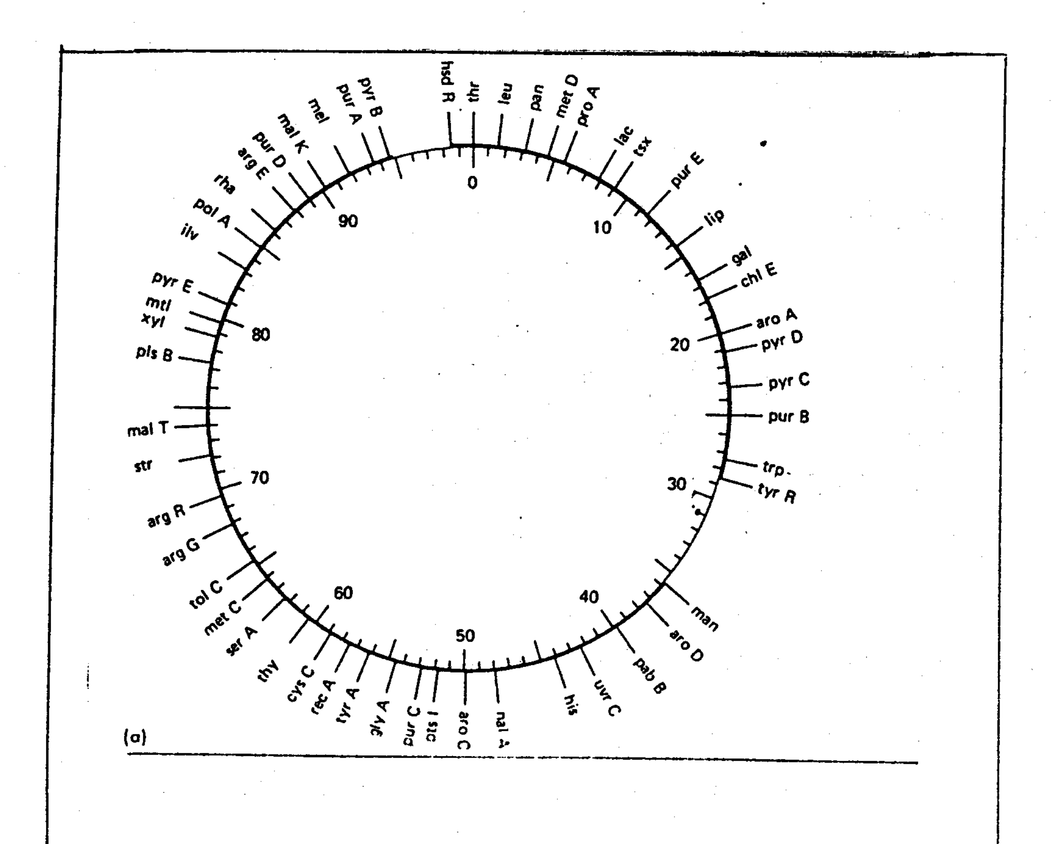
$gal^{+}lac^{+}\ T_{1}\text{-}s\ azi\text{-}s\ (\ thr^{+}\ ,\ leu^{+}\ )$

رسم الخرائط السريع بواسطة التزاوج :

Rapid Mapping by Conjugation

وهذه الطريقة كفوءة بدرجة عالية جدا فى رسم الخرائط الوراثية للبكتريات ولقد شيدها العالم ب·لو B. Low وهى تعتمد على الأسس التى وضعها كل من جاكوب — و— وولمان · وفى هذه الطريقة تستغل ١٥ سلالة Hfr مختلفة من إ ·كولاى ،حيث تتسم كل سلالة بموقع اتصال خاص بـF وبذلك تنقل مقطع مختلف من الكروموسوم الرئيسى · وكل سلالة تكون حساسة للاستربيتومايسين · ويعين كل مقطع كروموسومى عن طريق سلالة Hfr مختلفة ، وبعد تجمع المقاطع ترسم منها الخريطة الوراثية · ويوضح الشكل (٨—٧) خريطة وراثية شبة كاملة لبكتريا إ ·كولاى السلالة K-12 .

ويمكن الرجوع الى المراجع المتخصصة لمعرفة أسس رسم الخرائط الوراثية فى البكتريات باستعمال ظاهرتى التحول والاستنقال ·



شكل (٨ـ٧) : خريطة وراثية دائرية لبكتريا إ٠كولاى ٠حيث تشير الأرقام إلى الموقع الخريطى بالدقائق (مقياس الزمن ١٠٠ دقيقة).

مسائل وتمارين :

١ ـ تلقيحات ثنائية العامل متضمنة السلالات a, b, c, d, e من فاج ما ، أعطت النتائج التالية :

التلقيح	تكرارات الاتحادات الجديدة (٪)
a x b	$< 10^{-3}$
a x c	2.0
a x d	3.0
a x e	1.0
b x c	$< 10^{-3}$
b x d	1.0
b x e	0.8
c x d	1.1
c x e	2,8
d x e	3.8

رتب هذه الجينات فى خريطة وراثية ٠

٢ ـ كيف يكون انتقال العنصر F مشابها لعدوى بالفاج ؟ وكيف يكون مختلفا ؟

٣ ـ ماذا تعنى الخريطة الوراثية لكائن ما ؟

٤ ـ اشرح كيفية انتقال الكروموسوم البكتيرى من خلية Hfr الى خلية F^- مستقبلة.

٥ ـ مالفرق بين الكروموسوم البكتيرى والكروموسوم الفاجى ؟

xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

الباب التاسع
الطفرات الكروموسومية والجينية
كمصدر للتباين فى الكائنات الحية

مصادر التباين فى الكائنات الحية :

لاتعنى الوراثة أن يكون التشابه بين الآباء والنسل مطلقا . وباستثناء حالة التوائم الصنوية الناشئة عن انقسام ميتوزى للزيجوت ، أو الافراد الصنوية الناشئة عن تكاثر خضرى لفرد معين — فلايوجد فردان متشابهان مطلقا . وتقسم مصادر التباين والاختلافات المشاهدة بين الافراد داخل النوع Species الواحد الى :

(١) تباينات بيئية Environmental variations

(٢) تباينات نتيجة التوليفات الوراثية الجديدة Recombinations

(٣) تباينات طفورية (كروموسومية أو جينية) Chromosomal and Gene Mutations

ويعزى جزء من التباين الموجود بين مختلف أفراد الكائنات الحية فى الطبيعة إلى الظروف البيئية . فهناك بعض الصفات التى قد لاتتأثر أو تكون قليلة التأثر بالبيئة مثل طرز الدم فى حين أنّ هناك صفات أخرى شديدة التأثر بالبيئة — كلون الشعر فى القوارض أو الصفات الكمية لمختلف الكائنات الحية .

ويعزى الجزء الاكبر للتباين الموجود بين مختلف الكائنات إلى أساس وراثى . وتعتبر التوافيق الجينية الجديدة New gene combinations من أهم أساليب التباين الوراثية . واستمرار تجدد هذا المصدر موكول أمره إلى عملية التكاثر الجنسى . كما أن جزاء كبيرا أيضا من هذا التباين الوراثى يُعزى إلى حدوث تغيرات فى الجهاز الوراثى للكائنات أو طفرات فى المادة الوراثية .

وبالرغم من قلة حدوث مثل هذا تلقائيا ،فإنّ هذا الجزء هو المصدر الوحيد لنشأة الفروق الوراثية بصفة عامة . فالطفرة الجينية هى الوسيلة الوحيدة لتعدد أليلات الجين الواحد وتنوع صوره وأيضا مظاهر الصفة المختلفة .

وأىّ تغيير يحدث فى الجهاز الوراثى للفرد فانه يحدث فى الكروموسومات . وقد يحدث هذا التغيير فى الخلايا الجسمية أو فى الخلايا التوالدية وفى أى طور من أطوار النمو . فاذا حدث تغير فى الجهاز الوراثى الموجود بنواة أى خلية فإنّ جميع الخلايا الناشئة من هذه الخلية لابد وأن تحمل نوياتها هذا التغيير . فاذا حدث هذا التغير فى نواة جاميطة فانها والفرد الذى ستشترك فى تكوينه سيحملان هذا التغير . واذا حدث فى الخلايا التوالدية والتى ستنشأ منها الجاميطات ،فان عددا من هذه الجاميطات سيحوى هذا التغير ،وكذلك الافراد التى تشترك هذه الجاميطات فى تكوينها .

وقد يحدث التغير فى الانسجة الجسمية فى أى أطوار النمو والتكوين ،فاذا حدث فى طور الزيجوت مثلا ،فإنّ جميع خلايا الفرد ستحوى هذا التغير . واذا حدث فى احدى الخليتين الناتجتين من الانقسام الاول للزيجوت ،فان خلايا نصف الفرد ستحوى التغير . أما اذا حدث التغير فى الجهاز الوراثى فى طور متأخر فستحوية بعض الخلايا فقط .

وفى جميع الحالات يظهر التغير الوراثى مباشرة اذا كان له أثر سائد dominant effect. أما اذا كان له أثر متنحى ،فلايمكن أن يكتشف مباشرة طالما كان الكروموسوم المماثل يحمل أليلات عادية تغطى الآثار المتنحية للتغير .

أنواع تغيرات الجهاز الوراثى (الجينوم) على المستوى الكروموسومى :

Genomic changes at the chromosomal level

سبق أن تناولنا الطفرة على المستوى الجزيئى (الباب الخامس) وفيما يلى سوف نتناولها من وجهة نظر كونها أحد أساليب التباين على المستوى الكروموسومى .

الجهاز الوراثى للكائن : تمثل نواة كل خلية فى الكائن جهازا وراثيا كاملا يتكون فى الكائنات الثنائية Diploids — وهى الغالبية العظمى من الكائنات الموجودة فى الطبيعة — من مجموعتين كروموسوميتين متماثلتين تماما (فيما عدا بعض الشواذ) . ويكون عدد الكروموسومات فى خلايا الجسم ثابتا للنوع الواحد ، ولكنه يختلف باختلاف الأنواع ، فمثلا فى الانسان يتكوّن الجهاز الوراثى من ٢٣ زوجا من الكروموسومات وفى الدروسوفلا من ٤ أزواج .... وهكذا .

فاذا فرضنا أنّ المجموعة الكروموسومية Chromosome group فى كائن ما — مُكوّنة من أربعة كروموسومات ترمز لها بـ ABCD ، فإن الهيئة الكروموسومية Chromosome complement لمثل هذا الكائن تُمثّل كالآتى AA, BB, CC, DD وبناء على ذلك فانه يمكن تقسيم أنواع التغيرات التى يمكن أن تطرأ على مثل هذا الجهاز الوراثى فى الآتى :

(١) تغيرات كروموسومية مجموعية منتظمة : Euploidy

وهذه تشمل نقص أو زيادة مجموعات كروموسومية كاملة للهيئة الكروموسومية الثنائية العادية .

أ ـ نقص عدد المجموعات :

حيث ينقص عدد المجموعات الكروموسوميه فى الهيئة الكروموسومية عن اثنتين ، فتحتوى النواة على مجموعة واحدة A, B, C, D . ويوصف الفرد الذى تحتوى خلاياه على مجموعة كروموسومية واحدة بأنه وحيد المجموعة Haploid or Monoploid ويرمز له بـ (ن) . ويوجد هذا النظام فى كثير من الكائنات الدنيئة كالفطريات .

وأحادية المجموعة فى الكائنات الراقية قليلة الحدوث ، وإن وجدت فغالبا ما تكون صغيرة الحجم إذا ما قورنت بمثيلاتها الثنائية العادية . وفى الكائنات الحيوانية فإن أحاديات المجموعة نادرا ما تعيش باستثناء ذكور نحل العسل Male bees وذكور الدبابير Male wasps ، لأنها أحادية وعادية جدا وخصبة . وفى الكائنات النباتية الأحادية فانها غالبا ما تكون ضعيفة وعقيمة ، وذلك لاختلال توزيع الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى فيها .

ب ـ زيادة عدد المجموعات :

حيث يزيد عدد المجموعات الكروموسومية فى الهيئة الكروموسومية عن اثنتين ، فتحتوى النواة على أكثر من مجموعتين كروموسوميتين Polyploidy ، وتعدّد المجموعات هذا من نوعين :

(١) تعدد مجموعات ذاتى : Autopolyploidy

وفيه تكون جميع المجموعات الكروموسومية متماثلة . فقد تتكرّر نفس المجموعة ثلاث مرات AAA, BBB, CCC, DDD ويعرف الفرد فى هذه الحالة بثلاثى المجموعة ذاتى Autotriploid . وينتج الفرد ثلاثى المجموعة الذاتى من اتحاد

جاميطة أحادية (ن) مع جاميطة ثنائية (٢ن) • وفى أثناء الانقسام الميوزى لمثـل هذه الخلايا ثلاثية المجموعة الكروموسومية تتوزّع كروموسومات المجموعة الزائدة فـى توافيق مختلفة مع المجموعتين الأصليتين — مما ينتج عنه جاميطات غير متـوازنـة وراثيا Unbalanced • ونظرا للعقم الذى يُميِّز الكائنات ثلاثية المجموعة فإنهـا لاتوجد عادة فى العشائر الطبيعية Natural populations للكائنـات إلا إذا كانت الأفراد تتكاثر لاجنسيا • وقد تتكرّر نفس المجموعة أربع مرات ، وتعـرف برباعى المجموعة Autotetraploid ، أو خمس مرات أو ست مرات • • • • وهكذا • ومضاعفة عدد الكروموسومات يمكن أن يحدث إما تلقائيا Spontaneously أو قد يُستَحْدَث صناعيا باستخدام بعض الكيماويات القلوية Alkaloids مثـل الكولشيسين Colchicine • ويمكن للأفراد رباعية المجموعة الذاتية أن تنشأ من اتحاد جاميطتين ثنائيتين (٢ ن لكل جاميطة) •

(٢) تعدّد مجموعات خِلْطى : Allopolyploidy

وفيه تكون واحدة أو أكثر من المجموعات المتُعدّدة الموجودة فى الهيئـة الكروموسومية للنواة غير متماثلة • وتنشأ هذه الحالات عادة نتيجة تهجين طبيعى أو صناعى بين نوعين أو جنسين متقاربين ، فتكون الهيئة الكروموسومية لهذا الهجـين خليطة للمجموعات الكروموسومية المختلفة الواردة من الأبوين • فمثلا إذا فرض وجـود نوعين مختلفين بينهما صلة قرابة ، ويكل منهما أربعة أزواج من الكروموسومات AA, BB ,CC, DD و A^1A^1, B^1B^1, C^1C^1, D^1D^1 ، فإن الهيئة الكروموسومية لأفراد الجيل الأول الناتج من تهجينهما تكون بالترتيب A ,B, C, D, A^1, B^1, C^1, D^1 • ومثل هذه الهُجُن تكون عقيمة عادة • ومن

أمثلتها فى الحيوان ــ البغل ــ وهو ينتج من تهجين بين الحصان (٣٠ زوجا من الكروموسومات) والحمار (٣٣ زوجا من الكروموسومات) • وعُقم هذا الهُجُن يحدث نتيجة لسوء توزيع الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى ، بسبب فشلها فى التزاوج أثناء الدور التمهيدى الأول ، لعدم تماثلها وراثيا • أما إذا حدث فى مثل هذه الهُجُن تضاعف ، أعطت فردا بالتركيب الكروموسومى :

$$AA, BB, CC, DD, A^1A^1, B^1B^1, C^1C^1, D^1D^1$$

ومثل هذا الفرد يكون فى العادة خصبا لاستتباب النظام فى توزيع الكروموسومات أثناء الانقسام الميوزى ، حيث أصبح لكل كروموسوم قرين يتزاوج معه • وبالرغم من أنَّ هذا الفرد رباعى ، فإن وجود كل مجموعة بحالة مزدوجة مع عدم تماثل كروموسوماتها للاخرى ، فلا تُكوِّن الكروموسومات إلا وحدات ثنائية أثناء الانقسام الميوزى •

وتعرف مثل هذه الأفراد عديدة المجموعة ، والتى تبدو كالثنائية فى سلوكها السيتولوجى بشبيهه ثنائى المجموعة Amphidiploid • وتنتشر مثل هذه الهُجُن فى كثير من الأنواع النباتية ــ وأوضح مثال على ذلك الهجين Raphano-Brassica والناتج من تهجين طبيعى بين الفجل والكرنب •

ويمكن توضيح متعدد المجموعات الخلطى Allopolyploid تخطيطيا كالآتى :

الآبــــاء : $A^1A^1B^1B^1C^1C^1D^1D^1$ x AABBCCDD AA

الجيل الأول : $ABCDA^1B^1C^1D^1$

هجين عقيم

↓ تضاعف طبيعى أو صناعى

$AABBCCDDA^1A^1B^1B^1C^1C^1D^1D^1$

شبيه الثنائى غالبا ما يكون خصبا

(٢) تغيرات كروموسومية عددية : Aneuploidy

وهذه تشمل نقصا أو زيادة فى عدد كروموسوم معين أو أكثر من المكونة للمجموعة . وهذا النوع من التغيرات يُقَسَّمَ إلى الآتى :

أ ـ تغيرات بالنقص :

١) وحيد الكروموسوم Monosomic : حيث يكون النقص فى كروموسوم واحد فقط . فتوجد جميع الكروموسومات بحالة ثنائية فيما عدا كروموسوم واحد فقط يوجد بحالة فردية . ويسمى الفرد بوحيد الكروموسوم Monosome ، فاذا كان الكروموسوم الناقص أحد فردى الزوج A مثلا تسمى وحيد الكروموسوم A (Monosomic A) . ويُعَبّر عن التركيب الكروموسومى له بالصورة (A-, BB, CC, DD) . وقد تكون الوحدة لأىّ كروموسوم آخر غير A فيكون وحيد الكروموسوم (AA, B-, CC, DD) أو وحيد الكروموسوم C (AA, BB, C-, DD) أو وحيد الكروموسوم D (AA, BB, CC, D-) ، وهذه الأفراد يُرمَز لها بالرمز (٢ ن ـ ١) . وفى أثناء الانقسام الميوزى لخلايا مثل هذه الأفراد يتوزّع الكروموسوم الوحيد لأىّ من القطبين أو يُفْقَد فى بعض الأحيان ، والكائنات وحيدة الكروموسوم تُعطِى غالبا نوعين من الجاميطات ن و (ن ـ ١) ، غالبا الأخيرة ماتكون عقيمة أو غير عاملة . وفى الكائنات الحيوانية فان فَقْد كروموسوم بأكمله غالبا ما يؤدى إلى عدم التوازن الوراثى ، وتكون نتيجته ارتفاع نسبة الموت أو انخفاض الخصوبة فى مثل هذه الافراد ، كما هو الحال فى تناذر تيرنر Turner's Syndrome فى الانسان ، حيث تكون أنثى ولكنها تفشل لتكون

امرأة ناضجة ، وتكون قصيرة القوام ولايكون لها ثدى ولا تحيض •

(٢) ثنائي وحيد الكروموسوم Double monosomic : حيث يشمل النقص كروموسومين مختلفين ، فمثلا قد يكون الفرد وحيد للكروموسومين A, B فيكون تركيبه (A-, B-, CC, DD) أو وحيد للكروموسومين A, D فيكون تركيبه (A-, BB, CC, D-) وهكذا .... ويرمز للفرد فى هذه الحالة بالرمز (٢ ن ــ ١ ــ ١) •

(٣) عديم الكروموسوم Nullisomic : حيث يشمل النقص فرد ى أى زوج من الأزواج ، فمثلا إذا كان النقص لـ A عرف بعديم الزوج A (Nullisomic A) ويعبر عن تركيبه بالصورة (--, BB, CC, DD) وبالمثل لو غاب أى زوج آخر ويرمز له (بـ ٢ ن ــ ٢) ، وغالبا ما يكون مثل هذا النقص مميتا •

ب ــ تغيرات بالزيادة :

حيث يوجد واحد من الكروموسومات بحالة ثلاثية أو رباعية بدلا من الحالة الثنائية العادية •

١ ــ ثلاثى الكروموسوم Trisomic :

فمثلا قد يوجد الكروموسوم A بحالة ثلاثية بينما تكون باقى الكروموسومات بالحالة الثنائية العادية ويعرف هذا الفرد (AAA, BB, CC, DD) بثلاثى الكروموسوم A (Trisomic A) • وبالمثل لو كانت الزيادة فى أى كروموسوم آخر خلاف A ، ويرمز للعدد الكروموسومى فى هذه الحالة بالمعادلة (٢ ن + ١) • وفى أثناء الانقسام الميوزى فى مثل هذه الحالة قد يتكون فى الباكتين (الضام) وحدة ثلاثية واحدة Trivalent ، فى حين تكون بقية الكروموسوما ت وحدات ثنائية •

ويتكوّن نوعان من الجاميطات ، نوع (ن + ١) ، والنوع الثانى (ن) • وثلاثـــى الكروموسوم يؤدى إلى تكوين مظاهر مختلفة Different Phenotypes حسب أىّ الكروموسومات فى الهيئة يكون ثلاثيا ، فمثلا فى الانسان وجود الكروموسوم ٢١ بحالة ثلاثية له تأثير ضار حيث يسبب ما يعرف بمرض العتة المنغـــولى Mongolism ، كما أنّ وجود الكروموسوم X بحالة ثلاثية ينتج عنه تكون أنثـــى متخلفة عقليا •

٢ـ رباعى الكروموسوم Tetrasomic :

إذا وُجِد أحد الكروموسومات بحالة رباعية مع وجود بقية الكروموسومات فـــى الهيئة بحالة ثنائية عادية ، يعرف الفرد بأنه رباعى الكروموسوم ؛ مثـــلا AAAA, BB, CC, DD (Tetrasomic A) • وفى هذه الحالة يـــرمز للهيئة الكروموسومية بالمعادلة (٢ ن + ٢) وفى أثناء الانقسام الميوزى تتكـــوّن وحدة رباعية Quadrivalent واحدة بجانب الوحدات الثنائية العاديـــة Bivalents ، مما يؤدى إلى تكوين بعض الجاميطات غير المتزنة وراثيا مصحوبة بعقم جزئى •

(٣) تغيرات كروموسومية داخلية : Homosomal Changes

وهى جميع التغيرات التى تتصل بأجزاء كروموسوم واحد فقط • ويتفـــاوت عادة طول الجزء من الكروموسوم الذى يشمله التغير • ولتيسير وصف هذه التغيرات سنعطى مناطق الكروموسوم المتتابعة حروفا متتالية ممثلة الترتيب الطبيعى لهـــذه المناطـــق فـى الكروموسوم •

A B C D E F G

ويشمل هذا النوع من التغيرات الكروموسومية ثلاثة أقسام :

أ ـ النقص أو الاقتضاب : Deficiency (Deletion)

إذا نقص أو فُقِد جُزء من الكروموسوم ، وليكن المنطقة D يصبح هذا الكروموسوم بالصورة التالية :

A B C E F G

وقد يكون الفَقْد صغيرا ليشمل جينا واحدا فقط ، وفى هذه الحالة فإنّ مظهراً جديداً يشبه الطفرة الجينية قد يظهر فى الكائن ، ولكن الفرق بين الطفرة الجينية والنقص هو أنّ الأولى يمكنها الارتداد Back mutate فى حين أنّ الأخير لا يمكنه ذلك . أما إذا شمل النقص جزءا كبيرا من الكروموسوم فقد يكون تأثيرهَ مُميتا للفرد ، وعندما يكون الفرد خليطا لنقص معين فى كروموسوم ما فإن زوج الكروموسومات الخليط يظهر فى الطور الضام من الانقسام الميوزى على شكل عُروَة loope ، كما هو موضح بالرسم التالى :

D

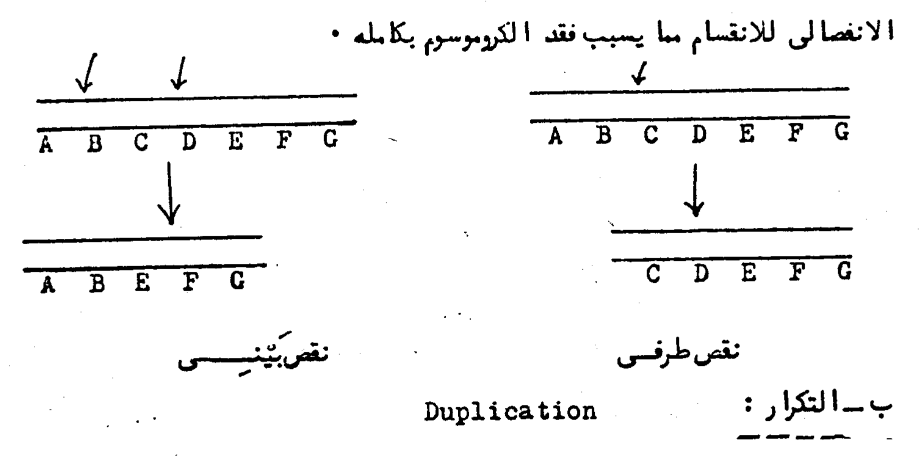
A B C E F G

A B C E F G

وقد يكون النقص طرفيا Terminal وينشأ من انفصام واحد فى الكروموسوم يتبعه إلتئام للنهاية المفصومة ، أو قد يكون بينيا Interstetial ، وينشأ من انفصامين فى الكروموسوم يتبعهما إلتحام للمواضع المفصومة .

واذا شمل النقص منطقة السنترومير فإنّ الكروموسوم يَفْقِد القدرة على الحركة فى الطور

الانفصالي للانقسام مما يسبب فقد الكروموسوم بكامله •



ب ـ التكرار : Duplication

أيّ قطعة كروموسومية زائدة ، سواء أكانت متصلة بطريقة ما بأحد أفراد الهيئة الكروموسومية العادية أم توجد في صورة كِسْرَة كروموسومية تعرف بالتكرار ، ووجود التكرار في أيّ فرد أقل ضررا من وجود النقص • ويتّخذ التكرار أشكالا متعددة • فقد يكون تكرارا تلويا ، أو تلويا معكوسا أو منقولا • وفي جميع الحالات يظهر في طُرُز الباكتين (الضام) أثناء الانقسام الميوزي على شكل عروة loope ، كما هو الحال في حالة النقص •

تكرار تلوي	A B C B C D E F G	=	A B C D E F G F G
تكرار تلوي معكوس	A B C C B D E F G		A B C D E F E F G
تكرار منقول	A B C D E B C F G		A B C D E F G

جـ ـ الانقلاب : Inversion

يشمل تغييرا فى ترتيب المناطق فى الكروموسوم دون نقص أو زيادة وذلك بأن ينعكس وضع قطعة من الكروموسوم بأن تدور حول نفسها ١٨٠° ، وقد يشمل الانقلاب منطقة السنترومير أو لا يشملها (أنظر الرسم) :

A B C D E F G. — A B C F E D G

Pericentric Inversion — إنقلاب يشمل منطقة السنترومير

A B C D E F G — A B E D C F G

Paracentric Inversion — إنقلاب لا يشمل منطقة السنترومير

وفى كثير من الأحيان يسبب حدوث الانقلابات فى الكروموسومات منع أو كبت العبور الوراثى أثناء الطور التمهيدى للانقسام الميوزى — ولذا يُطلَق عليها أحيانا كابتات العبور Crossover suppressors ، كما أن الانقلاب يسبب تغييرا فى علاقات الارتباط linkage بين جينات أى مجموعة إرتباطية .

(٤) تغيرات كروموسومية مشتركة : Heterosomal Changes

وهى عبارة عن التغييرات التى يشترك فيها أكثر من كروموسوم واحد ، فاذا حدث انفصام بكروموسومين ، ثم حدث تبادل مشترك للأجزاء بينهما عن طريق الالتحام ، فإن هذا يعرف بالانتقال Translocations . ويكون سلوك الكروموسومين الجديدين طبيعيا إذا احتوى كل منهما على سنترومير واحد .

والبيان التالى يوضح انتقالا متبادلا بين كروموسوم وكروموسوم .

بعد الانتقـــال	قبل الانتقـــال
AAA-●-AAAAAAAA BBBB	AAA-●-AAAAAAAAAAAA
BB-●-BBBBBBBBB-AAAA	BB-●-BBBBBBBBBBBBB

وفى الأفراد الخليطة للانتقال تظهر الكروموسومات المتزاوجة أثناء الدور التمهيـدى (الضام) فى الانقسام الميوزى على شكل صليب ، وتؤدى الانتقالات إلى نتائـج وراثية مميزة :

١ — عقم جزئى Semi-sterility نتيجة لشذوذ فى عملية التزاوج الكروموسومى.

٢ — بعض الجينات التى كانت مستقلة فى توزيعها ستظهر علاقات ارتباطية جديـدة عقب حدوث الانتقال .

٣ — قد يتغير التعبير المظهرى Phenotypic expression لجين مـا عندما ينتقل من موضعه الطبيعى إلى موضع جديد فى الهيئة الجينية للفـرد . وتعرف هذه الظاهرة بتأثيرات الموضع Position Effects .

(٥) تغيرات فى حجم الكروموسوم :

بصورة عامة ، تكون كروموسومات معظم الكائنات صغيرة وعديدة جدا كمـواد للدراسات السيتولوجية . ولاتعتبر الدروسوفلا من انسب الكائنات للدراســات الوراثية فحسب ، بل ايضا من انسب الكائنات للدراسات السيتولوجية والسيتووراثيـة ، وذلك لاحتوائها على كروموسومات خاصة ذات احجام ضخمة تعرف بالكروموسومات البولتينية Polytene chromosomes (أنظر الشكل ٣—٧ فالباب الثالث) .

(٦) تغيرات موقعية أو جينية : Point or Gene Mutations

يقصد بالطفرة الجينية التغيرات التى تحدث فى جين واحد فقط دون اشتراك أى جين آخر ، بحيث ينتج عن هذا التغير صورة أخرى لهذا الجين (أليل جديد) تتبادل معه الوجود فى الأفراد المختلفة . وهذه الطريقة هى الوسيلة الوحيدة للحصول على الأليلات المختلفة لجين واحد . والطفرة بمعناها الواسع تشمل جميع أنواع التغيرات التى تحدث فى الجهاز الوراثى Genome للفرد بما فى ذلك التغيرات الكروموسومية السابق شرحها ، الا أنه فى كثير من الأحيان يطلق لفظ طفرة بمعناها الضيق ليقتصر على الطفرة الجينية . وتعرف الطفرة Mutation بأنها أى تغير وراثى مفاجئ يؤدى لظهور صورة جديدة لصفة ما ، لم تكن موجودة من قبل فى عشائر الكائن الذى حدثت به ، كما أن التغير له القدرة على الثبات والتوارث فى الأجيال المتعاقبة .

ولقد أثبتت الدراسات الوراثية الحديثة أن الطفرة الجينية تنتج نتيجة لتغير فى التركيب الكيماوى لمادة الجين نفسه وهو الحمض النووى الـ د ن أ DNA (انظر باب البناء الكيميائى للمادة الوراثية) . وتلعب الطفرات دورا هاما فى عملية تطور الكائنات الحية .

وفى الواقع لا يعتبر كطفرات كروموسومية الا التغيرات التى يمكن تمييزها سيتولوجيا ، أما الطفرات التى يتعذر تمييز تغيرات سيتولوجية تقابلها ، فانها تعامل على أنها طفرات جينية ، دون الجزم بذلك ، الا اذا توفرت دلائل أخرى ، كارتدادها للأصل أو تكرار حدوثها . كما أنه من المتوقع مستقبلا أن يتضح الكثير من الطفرات المعتبرة أنها جينية ماهى فى الحقيقة الا تغيرات كروموسومية دقيقة لم تساعد الوسائل الحالية على اكتشافها ، والدليل على ذلك الطفرات الكثيرة فى الدروسوفلا التى كان يظن

أنها طفرات جينية ، واتضح بعد اكتشاف كروموسومات الغدد اللعابية فى يرقـــات هذه الحشرة ، انها إما نتيجة نقص أو تكرار أو انقلاب أو انتقال لأجزاء صغيرة مـــن الكروموسومات ، وتعتبر طفرة العين العودية فى الدروسوفلاميلانوجاستر نموذجا لذلك .

وفى الواقع فان الطفرة الجينية ماهى الا تغير على مستوى جزئ الـ د ن أ (DNA) يترتب عليه تكون تتابع جديد فى ترتيب القواعد المكونة لخيط الـ د ن أ فى كروموســوم ما ، ويمكن أن تحدث الطفرة الجينية على المستوى الجزيئ فى خمسة طرز (البـــاب الخامـــس ـ أنظـــر الشـــكل ٥ ـ ١) .

الطفرات التلقائيـــة : Spontaneous mutations

الطفرة التلقائية تنشأ فى الطبيعة دون سبب ظاهر ، وكثيرا ما يدرك ظهـــور هذه الطفرات فى البيئات الخالية من الملوثات البيئية ، ويعتقد أنها تنشأ مـــن مصدرين أساســـين :

١ ـ فشل الانزيمات المسئولة عن تناسخ الـ د ن أ فى تأدية وظائفها بدقة،حيث تسمح لقاعدة خاطئة أن تبقى بدون استئصال . وهذه تستمر وتتوارث .

٢ ـ قد يحدث عدم تنشيط لاصابة طفرية يترتب عليها حدوث تزاوج خاطئ يتلو عملية التناسخ .

وقد وُجِد أن معدل حدوث الطفرات التلقائية ثابت بدرجة ملحوظة فى جميـــع صور الحياة ، ويقدر هذا المعدل بحوالى ٠٠٥ ر ٠ من الطفرات فى كل طاقـــم جينى Genome لكل دورة تناسخ للـ د ن أ . وهذا يعنى أن معدلات الطفرة التلقائية لكل زوج من القواعد يتناقص بدرجة كبيرة من البكتريوفاجات ذات الطاقـــم الجينى المحدود الى الكائنات مميزة النوى Eukaryotes ذات الطاقم الجينـى

الكبير ،ويبدو أن الكائنات مميزة النوى قد طَوَّرت سُبلا أكثر تقدما وكفاءة لتلافى الأحداث الطفرية التلقائية .

الطفرات المستحدثة Induced mutations :

الطفرات ،سواء كانت كروموسومية أو جينية ، يمكن استحداثها صناعيا بأى عامل يمكنه أن يؤثر فى البناء الطبيعى للمادة الوراثية ، أو فى ميكانيكيات تحرك الكروموسومات أثناء الانقسام . ومن ثم فان أى مادة سامة للخلايا قد تكون ذات قدرة مطفرة . وكثير من الملوثات البيئية والمبيدات الحشرية والمواد المضافة لحفظ الأغذية وعقاقير الهلوسة والمخدرات وغيرها تعتبر حاليا من المطفرات .

ويمكن تقسيم المطفرات للأنواع التاليـة :

١ ــ المطفرات الطبيعية : وهذه تشمل جميع أنواع الأشعة المؤينة Ionizing radiations ومنها على سبيل المثال الأشعة السينية (X-rays) وأشعة جاما γ-rays والنيوترونات السريعة Fast neutrons والبطيئة ... الخ وكذلك الأشعة غير المؤينة مثل الأشعة البنفسجية - Ultra violet(UV) خاصة عند طول الموجة ٢٦٠٠ أنجستروم التى يمتصها الدنا ــ كذلك وجد أن الصدمات الحرارية يمكن أن تؤدى لاستحداث الطفرات .

٢ ــ المطفرات الكيميائية : وهذه تشمل العديد من الكيماويات الصناعية وأهمها :

ــ مواد القلودة Alkylating agents وهذه تشمل مجموعة متنوعة من المركبات الكيميائية عالية التفاعل مع المادة الوراثية حيث تضيف مجموعة ألكيل alkyl group أو أكثر للنوتيدات فى مواقع عديدة ، وأهم هذه المواد غاز الخردل Mustard gas الإبوكسيدات Epoxides

والسلفونات ثنائية الميثيل وثلاثية الايثيل وكذلك ميثيل وايثايل ميثان السلفونايت (EMS & MMS).

ـ حمض النيتروز Nirtrous acid وهو يسبب الغاء أمينية النوتيدات ، حيث يزيل مجموعة الأمين (ـ ن يد ٢) ويحل بدلا منها مجموعة كيتو (=أ)

ـ فمثلا ـ الغاء أمينية السيتوسين يؤدى الى تكوين القاعدة " يوراسيل " والغاء أمينية الأدنين يؤدى الى تكوين قاعدة شاذة "هيبوزانثين" (HX) .

ـ الهيدروكسيل أمين Hydroxylamine : وهو يتفاعل مع بريميدينات الد ن أ وبخاصة القاعدة " سيتوسين " ، وهو من أقوى المطفرات والمسرطنات .

ـ مركبات الازايد Azide: وأهمها أزايد الصوديوم و (NaN_3) ، وأزايد البوتاسيوم (KN_3) . ، وهما يوجدان على صورة كريستلات ملحية . والاملاح المعدنية القلوية منهما ثابتة نسبيا ، لكن قد تتحول هذه الاملاح الى حمض الهيدرازويك (HN_3) . والصورة الحمضية طيارة ، وتغلى على درجة حرارة ٣٦°م ، وتتطاير بسهولة من المحاليل بتكوين فقاعات هوائية .

وتتميز مركبات الازايد بالسمية الشديدة ، حيث تسبب تسمما خلويا ، اذ يمتص حمض الهيدرازويك (HN_3) بسهولة فى الدورة الدموية ويسبب انخفاضا فى ضغط الدم وزيادة فى ضربات القلب وعدد مرات التنفس مع احمرار فى الوجه ، وبالرغم من ذلك يكون الشفاء منه سريعا .

وتعتبر مركبات الازايد من أقوى المطفرات الصناعية ، خاصة اذا استعملت أثناء المعاملات المطفرة عند درجة تركيز أيون الهيدروجين ٣ (pH 3) .

ـ صبغات الاكريدين Acridine dyes : وأهمها البروفلافين وبرتقالى الاكريدين والاكريدين خماسى الامين ، وهذه المركبات نشطة طفوريا فى وجود

الضـــوء العـــــادى ·

ـ المضادات الحيويـــة Antibiotics: وأهمها الميتومايسين C والاستربيتومايسين والازاسيرين وغيـــــرها ·

ـ مبيدات الآفات Pesticides: وأهمها مركبات الهيدروكربون Hydro-carbons والمبيدات التى يدخل فى تركيبها الفوسفور ، وجميعهــا شديد السمية وله قدرة عالية على استحداث الطفرات الكروموسوميـــة ، كمـــا أن العديــــد منهـــا مسرطـــن Carcinogenic .

وبصـــورة عامة تعتبر الكيماويات الصناعية مـــن المطفـــرات ·

xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx

البـــاب العاشـــر

البيئة والوراثة كمصدر للتبايـــــن فـــى الكائنات الحيـــة

مقدمـــــة :

لا توجد علاقات مباشرة بين الجينات وتأثيرها على مظهر الكائن ، ولا يعنى مجرد وجود أليل معين ضرورة وجود تأثير مباشر له ، وكان ذلك واضحا من علاقـات السيادة بين الأليلات ، حيث لا يظهر تأثير الأليل المتنحى بالرغم من وجوده وهـو فى الحالة الخليطة . وكما هو متوقع فهناك أنواع مختلفة من التفاعلات .

والأسباب التى يمكنها تحوير تأثير جين معين تعزى للفجوة الواسعة بـين المادة الوراثية من ناحية ، ومظهر الكائن من الناحية الأخرى . وكما رأينا فـى الأبواب السابقة ، تتكون المادة الوراثية أساسا من كمية ضئيلة للغاية من الد ن أ DNA تنتقل عبر الأجيال . وبالرغم من ذلك فإن كتلة أى كائن تلضج تمثل بلايين الأضعاف من كتلة الهيئة الوراثية الثنائية الأصلية عند الاخصاب . ولكى ينمو كائن ما ، يجب عليه الحصول على كميات هائلة نسبيا من المواد المحيطة به فى بيئتـه ، حيث تنتظم هذه المواد فى مظهر الكائن من خلال تفاعلات متناسبة غاية فى الاحكام .

وبالرغم من أنّ المادة الوراثية هى التى تساهم بالامكانيات والتوجيهات اللازمة لنمو الكائن مظهريا وسلوكيا ، فإن نمو واستمرار وجود الكائن حيّا لابد أن يعتمد أصلا على عوامل بيئية ، مثل توفر الغذاء ، درجة الحرارة المناسبة ، الضوء .. وغيرها .

من ذلك يتضح أنّ ما يُورّث هو القدرة على التفاعل بطريقة معينة تحت ظـــروف بيئية خاصة ، فالتركيب الوراثى هو الذى يحدد الامكانيات والبيئة هى التى تظهر مدى قدرة هذه الامكانيات على تكوين الشكل المظهرى للكائن خلال فترة حياته .

ولما كان نمـو الكائن يشمل خطوات فردية عديدة ، فى كل خطوة منها قد

يحدث تفاعل بين البيئة والتركيب الوراثي للفرد ، أو بين العناصر المختلفة للفـــرد وتركيبه الوراثي ، فإنه لا يمكننا القول بأنّ هناك جينا معينا يحدد صفة معينـــة ، فعلى سبيل المثال لا يوجد جين قائم بذاته يحدد لون العين الازرق ، أو آخـــر يحدد لون الشعر البنى ، ولكن هناك جينات ، إذا توفرت لها ظروف بيئية خاصة وتركيب وراثي معين ، تؤثر في عملية النمو بحيث تجعله يُكوِّن عيونا زرقا وشعرا بنيا ، وهذا التمييز الدقيق هام جدا لأنه يُوضِّح الحقيقة التي تقول "أن مظهر الفرد يتكون نتيجة للتفاعل المطلق بين مجموعة كبيرة من العوامل على كل مستويات النمو الخاصـة به أثناء حياته " .

نستنتج مما سبق أنّ مظهر الفرد هو المحصلة النهائية بين تركيبه الوراثـــي والبيئة التي يعيش فيها .

وليس من الغريب أنّ مظهر الفرد قد لا يعكس دائما تركيبه الوراثي ، وبتعبير أدق ، يوجد نوعان من التأثيرات يمكن ملاحظتهما وقياسهما ، وهما " النفـــاذ Penetrance والتعبير Expressivity " .

نفاذ وتعبير الجينات: Penetrance and Expressivity of the Genes

يمكن تعريف نفاذ الجين Penetrance بأنه مقدرة جين ما ، أو توافيق جينية معينة على إحداث أثرها المظهري بدرجة معينة ، فالاختلاف أو التباين فـي الظروف البيئية أو في الخلفية الوراثية Genetic Background للفـــرد قد يسبب إختلافات مظهرية للأفراد الأصيلة لجين معين ، فمثلا صفة الأصابـــع الزائدة في الانسان (Polydactilism Extra fingers and/ or toes يتحكّم فيها الجين السائد (P) والحالة الطبيعية (خمسة أصابع فـي

كل طرف (five fingers on each limb) يتحكم فيها الـ
المتنحى (pp) ، وقد وجد أن بعض الأفراد ذات التركيب الوراثى pp
طبيعية ، لذا يمكن القول بأن درجة نفاذ هذا الجين أقل من ١٠٠٪ .

وفى كثير من الصفات التى سبق دراستها كانت درجة نفاذها ١٠٠٪ ، ومن
الأمثلة المعروفة فى الدجاج عن درجة نفاذ الجين صفة الرعشة (Tremor)
حيث يوجد فى الدجاج جين متنحى يسبب الرعشة ، والأفراد الأصيلة لهذا الجين
تهتز باستمرار تقريبا ، فمن بين ١١٢ فرد أصيل لهذه الصفة ظهرت الرعشة
الملحوظة على ٣٩ فرد فقط ، ومن ثم يمكن القول بأن الجين الخاص بالرعشة فى
الدجاج له درجة نفاذ منخفضة (حوالى ٣٥٪) ، أى أن الرعشة لم تظهر على جميع
الأفراد بالرغم من أنها جميعا تحمل التركيب الوراثى الذى يمكنها من إظهار هذه
الصفة ، وقد يعزى ذلك لوجود جينات محورة (Modifiers) أو
إختلافات فى ظروف البيئة أو من كليهما معا .

إذن درجة نفاذ الجين ما هى إلا وصف للنسبة التى يصل إليها التعبير
الظاهرى فى الأفراد المختلفة الحاملة لهذا الجين تحت ظروف خاصة .

وعندما تكون الصفة النافذة Penetrant character متباينة
فى مظهرها فى الأفراد ، فإن درجة تأثير التركيب الوراثى النافذ يطلق عليها درجة
التعبير Expressivity .

ففى المثال السابق فى الدجاج ، لوحظ أنه من بين الأفراد التى ظهرت
عليها صفة الرعشة يوجد اختلاف كبير فى درجة التعبير عن الصفة ، فقد كانت بعض
الأفراد تهتز بشدة لدرجة أنها تجد صعوبة كبيرة فى الحصول على الغذاء الضرورى ،
بينما ظهر على البعض الآخر رعشة محسوسة أو خفيفة .

من ذلك يمكن القول بأنّ الجين الخاص بالرعشة فى الدجاج له درجة نفاذ ٣٥٪ (منخفضة نوعا) ودرجة تعبير متغيرة كثيرا .

كذلك توجد إختلافات مماثلة فى الجينات السائدة . فمثلا الجين السائد مفصص Lobe فى الدروسوفلا (شكل شاذ للعين) تُقدّر درجة نفاذه بحوالى ٧٥٪ عندما يكون فى الحالة الخليطة تحت ظروف بيئية معينة . وقد تتغير هذه النسبة بتغير ظروف البيئة ، ومع ذلك فان هذا الجين السائد تكون درجة نفاذه ١٠٠ ٪ وهو فى الحالة الاصيلة .

أ — تأثير عوامل البيئة الخارجية على تعبير الجينات :

١ — درجة الحرارة Temperature : إن الارتباط الشديد الملاحظ بين مُعدّل التفاعلات الكيميائية ودرجة الحرارة يشير بالتأكيد إلى أنه من المتوقع أن يحدث فى الكائنات الحية كذلك . ولما كان التأثير الأساسى على النمو لكثير من الجينات هو التحكم فى معدل حدوث تفاعل محدد ، فإنّ أىّ تغير فى درجة الحرارة يحتمل أن يكون له تأثيرات واسعة المدى على هذا النمو ، ففى بعض الحالات قد تكون تأثيرات تغير درجة الحرارة شديدة جدا ، كما يتضح ذلك من الأمثلة التالية :

لون الشعر فى أرانب الهيمالايا :

فى هذه السلالة من الأرانب يكون لون العين قرنفلياً ولون الجسم أبيضاً فيما عدا الأطراف (الآذان والأقدام والذيل ومقدم الرأس) فإنها تكون ملونة . وقد وجد أنه إذا أزيل الشعر الأبيض من أىّ جزء من الجسم ثم حُفِظ الحيوان فى مكان منخفض الحرارة حتى ينمو الشعر الجديد فإن لون الشعر النامى يكون بلون الأطراف .

وعلى العكس من ذلك ، إذا أزيل الشعر الملون من الأطراف وحفظ الحيوان في مكان دافيء نما شعر جديد أبيض اللون بدلا من الشعر الملون الذى أزيل .

وقد فُسِّر ظهور الأجزاء الملونة فى هذه السلالة على أساس أنه نتيجة مباشرة لانخفاض درجة حرارة أطراف الحيوان عن بقية جسمه . وقد وجد أنّ الجين المسئول عن لون الشعر فى هذه السلالة من الأرانب يتحكم فى تكوين إنزيم ضرورى لتكوين الصبغة الملونة فى جميع أجزاء الجلد، وهذا الانزيم يتكون عند درجات حرارة ٣٢ °ف أو أقل ، وحيث أن الأطراف عرضة لانخفاض درجات الحرارة عن بقية الجسم ، فهذا يُفسِّر ظهورها ملونة . مما سبق يمكن القول أن ما يُورَّث هو قدرة الحيوان على تكوين الصبغة إذا توفرت الظروف البيئية المناسبة .

وعندما يمكن قياس تأثير الجين كَميا ، كما هو الحال فى صفة عدد العديسات فى طفرة العين العودية Bar eye فى الدروسفلا ، فإن تأثير درجات الحرارة يمكن إيضاحه بدقة أكثر . فمثلا عند رفع درجة الحرارة من ١٥ °مئوية إلى ٣١ °مئوية ، فإن عدد العديسات فى عين الطافر العودية يقل كثيرا . ومن ناحية أخرى فإن الوضع ينعكس فى وجود أليل آخر للعودى يسمى تحت العودى Infra-bar . فكلما زادت درجة الحرارة زاد عدد العديسات يتبين ذلك نرى أنّ تأثير تفاعل الجين مع البيئة يمكن عكسه ببساطة بمجرد إحلال جين محل الآخر ، لكن بالرغم من ذلك فما زال التفاعل باقيا .

٢ — الضوء Light :

يوفر الضوء الطاقة ومن ثمّ فهو ضرورى لنمو وتكوين كل الكائنات النباتية تقريبا ، وفى الحقيقة فإن البادرات التى تنمو فى الظلام قد تعيش لفترة قصيرة لكنها لا تُكوِّن

كلوروفيل ، ولذلك فهى تظهر بيضاء albina بالرغم من أنها تحمل جينات مسئولة عن تكوين الكلوروفيل ، ويمكن للضوء أن يعطى تأثيرات غير عادية أيضا مثل نمش الوجه Face freckling الذى يظهر على بعض الأفراد الذين لهم تركيب وراثى مُعيّن عند تعرضهم لضوء الشمس • كذلك فى نباتات الذرة من السلالة المعروفة باسم (الأحمر الشمسى) Sunred ، حيث يظهر اللون الأحمر البرّاق فى الأجزاء المعرضة لضوء الشمس ، بينما الأجزاء الأُخَر تكون خضراء ، وإذا غُطّى جزء من الأوراق المعرضة للشمس فإنه يتحول إلى اللون الأخضر • وقد بَيّن سِنْجِلْتَون Singleton أن اللون الأحمر لا يظهر بمنع وصول الجزء الأزرق البنفسجى من طيف الضوء ، عن طريق لف بعض الأجزاء بورق سيلوفان أحمر •

مرة أخرى نعود فنقول أنّ ما يُورّث هو القدرة على تكوين اللون الأحمر إذا توفرت الظروف البيئية المناسبة •

٣ ــ التغذيــة : Nutrition

يخدم الغذاء كثيرا من الوظائف ، مثل الامداد بالطاقة اللازمة للعمليات الحيوية الضرورية ، وكذلك الامداد بالمواد اللازمة لنمو الأنسجة المختلفة للجسم • ومن الناحية الوراثية فان الكائنات المختلفة ، حتى وإن كانت من نوع واحد ، عادة تختلف فى نوع وكمية المواد الغذائية التى تحتاجها، ويمكن إدراك ذلك بسهولة عندما تكوّن هذه الكائنات ، بسبب الطفرات الوراثية ، غير قادرة على تمثيل وبناء مركبات خاصة ، مما يجعل من الضرورى إضافتها كمواد غذائية إضافية فى وجبات هؤلاء الأفراد •

وكلما كانت الاحتياجات الغذائية بسيطة ، كلما كان من السهل إدراك وجود

النقص فى المواد اللازمة • ومن أكثر الأمثلة المعروفة عن ذلك ، العدد المُتنوّع من الطوافر الغذائية فى فطر عفن الخبز (النيوروسبورا Neurospora) • ففى العادة يستطيع فطر النيوروسبورا النمو على بيئة بسيطة مكونة من أملاح غير عضوية وسكر وبيوتين فيتامين B ، وباستعمال تكتيك خاص أمكن بيان وجود أنواع مختلفة من هذا الفطر لابد من إضافة بعض المركبات الكيميائية الخاصة إلى بيئة نموها حتى يمكنها النمو • وهذه المركبات تتراوح بين إضافة النشادر أو بعض الأحماض الأمينية المكوِّنة للبروتينات أو بعض المركبات الأخر كالأدنين واليوراسيل ، وقد أمكن اكتشاف كثير من هذه الحالات فى البكتريا أيضا •

وحسب التركيب الوراثى للكائن فإن التغيير البسيط فى نوع الغذاء قد يؤدى إلى تأثيرات جوهرية فى صفاته الوراثية • ففى الأرانب مثلا يتوقف ظهور الدهن الأصفر على عاملين : أولا وجود جين متنحى y فى حالة اصيلة ، ثم توفر خضروات فى الوجبة الغذائية تحتوى على مادة الزانثوفيل Xanthophyll • ويحرمان الحيوان من المادة الخضراء فى العليقة يمتنع تكوين الدهن الأصفر به • وهناك أمثلة أخرى عن علاقة الجين بالوجبة الغذائية Gene/diet relatio-ship كما هو الحال فى ظهور سيقان الأرجل الصفراء التى اكتشفت فى الدجاج ، كذلك اكتشفت حالات فى الدروسوفلا وكثير من الكائنات •

٤ ــ العلاقة الامية : Maternal Relationship

عقب عملية الاخصاب فى الثدييات تستمر العلاقة الجسدية بين الجنين والأم ، مما يترتب عليه وجود تفاعلات بيئية بين الجنين والبيئة الأمية ، ومن أحسن الأمثلة على ذلك عدم التوافق بين مجموعات الدم فى الأم والجنين مما قد يؤثر على حيوية

الأخير عندما يكون ذا تركيب معين ، كما هو الحال فى وراثة مجموعة دم الريسوس Rh التى سبق ذكرها فى موضوع الأليلية .

(ب) تأثير عوامل البيئة الداخلية على تعبير الجينات :

يمكن تعريف تأثير البيئة الخارجية على تعبير الجينات بأنه التغير المظهرى الذى يرتبط بتغير ملحوظ خارج الكائن ، أما تأثير البيئة الداخلية فهو التغير المظهرى الذى يرتبط أساسا بتغيرات تحدث داخل الكائن نفسه . وأمثلة النوع الأخير تشمل : العمر ، الجنس ، ووجود أو غياب بعض مواد التفاعل الداخلية فى الكائن . والتغيرات فى أىّ من هذه العوامل قد يؤثر فى تعبير أى تركيب وراثى .

١ ــ العمر : Age

بصورة عامة يمكن اعتبار أنّ عمر الكائن يبدأ من الاخصاب ، لذلك فإن الكائن لا يبقى ثابتا أثناء فترات نموه المختلفة . ففى كل فترة من العمر تحدث تغيرات مظهرية تسمح لتراكيب وراثية أخرى بالتعبير عن نفسها . فمثلا يتوقف ظهور تأثير الجينات المتحكمة فى لون الريش فى الدجاج أو لون الفراء فى الثدييات على تكوين هذه الأنسجة أثناء النمو . وفى الانسان أمكن تحديد تأثيرات العمر على ظهور صفات وراثية معينة بمنتهى الدقة كما يتضح من الجدول (١٠ــ١) . وهناك العديد من الصفات الوراثية التى يتحدد ظهورها أو يتأثر ظهورها بعمر الكائن فى مختلف الكائنات الحية . فمثلا يتحدد شكل ولون الزهرة والتبكير والتأخير عند عمر التزهير .

جدول (١٠ـ١) :

العمر الذى تظهر فيه بعض الصفات الوراثية فى الانســـان

الصفـة الوراثيــة Genetic Character		العمر الذى تظهر فيه الصفة (عادة)
١ـ أنتيجينات مجموعات الدم .	Blood-group antigens	قبل الولادة
٢ـ لون البول الغامق (بله الفينيل كيتون يوريا)	Alkaptouria	عند الولاده
٣ـ مرض تاى ساكس (عته الأطفال المصحوب بانحلال البصر)	Tay Sacks disease (Infentile Amaurotic Idiocy)	٤ ـ ٦ شهور
٤ ـ عته المراهقــة المصحوب بانحلال البصر .	Juvenile Amaurotic Idiocy	٥ ـ ١٠ سنوات
٥ـ الصلــع	Baldness pattern	٢٠ ـ ٣٠ سنة
٦ـ مرض البول السكرى	Diabetes mellitus	٤٠ ـ ٦٠ سنة

٢ ـ الجنس Sex :

يؤثر جنس الكائن فى كثير من الأحيان على تعبير الجينات ، فتظهر الصفـة

فى الذكور بمظهر معين وبمظهر آخر فى الاناث • كما قد يقتصر ظهور أثر جينات على جنس دون الآخر • والنوع الأول يعرف بالصفات المتأثرة بالجنس Sex influenced characters وقد سبق الاشارة إليها عند مناقشة موضوع السيادة فى الباب الرابع • والنوع الثانى يعرف بالصفات المحددة بالجنس Sex limited characters • ويتبع أثر الجنس على فعل الجين أثر البيئة الداخلية ، لأن إختلاف الذكر عن الأنثى ينتج عنه إختلاف فى البيئة الداخلية التى تحيط بجينات الفرد فتتأثر هذه الجينات فى أداء عملها •

الصفات المحددة بالجنس Sex limited characters :

هناك بعض الجينات لا يظهر أثرها إلا فى جنس واحد دون الاخر ، وتسمى مثل هذه الجينات بالعوامل المحددة بالجنس • وقد يتوقف تعبير هذه الجينات فى كثير من الحيوانات مثل الطيور والثدييات على وجود أو غياب الهرمونات الجنسية • ولكن وجدت بعض الحالات فى حيوانات أُخَر لا تعرف فيها مثل هذه الهرمونات • فاذا فرض أن الأليلين (s, S) يقتصر تأثيرهما على الجنس فإن التراكيب الوراثية الثلاثة لهذين الأليلين (ss , Ss , SS) لا يمكن التمييز بين تأثيراتها فى أحد الجنسين كالذكور مثلا ، ولكنها فى الاناث تعطى أكثر من شكل مظهرى واحد • ومثل هذه الجينات لها أهمية كبرى فى ماشية اللبن • فمن المعروف أنّ صفة إدرار اللبن تتأثر بعدد كبير من الجينات الموروثة من كل من الأبوين ولكن لا يظهر أثر هذه الجينات إلا فى الاناث فقط دون الذكور • ولكن أمكن تجريبيا العمل على إظهار هذه الصفة فى الذكور — ففى إحدى التجارب التى أجريت على خنازير غينيا تمكن بعض العلماء من جعل الذكور تنتج لبنا ، وذلك بعد خصى الذكور ، ثم حقنها

بعد ذلك بالهرمون المؤنث .

ومن الصفات المُحَدَّدَة بالجنس في الانسان والتي يحمل كل من الذكور والاناث الأليلات الخاصة بها في تركيبها الوراثي ، صفات إنتاج التوائم ، وانتاج اللبن وبعض الصفات التشريحية والفسيولوجية .

ومن أشهر الأمثلة المعروفة للصفات المحددة بالجنس صفة اللونين الأبيض والأصفر في فراش أبي دقيق البرسيم . حيث تكون جميع الذكور ذات لون أصفر ، في حين أنّ الاناث من لونين أبيض وأصفر ، وقد وُجد أنّ اللون الأبيض سائد على الأصفر في الاناث ولا يظهر تأثير الأليل السائد في الذكور على الاطلاق بالرغم من وجوده في تركيبها الوراثي . فإذا رمزنا لجين اللون الأبيض بالرمز W ولأليله الأصفر بالرمز w ، فإن التراكيب الوراثية والفئات المظهرية المقابلة لها في الذكور والاناث تكون كما يلي :

التركيب الوراثي	المظهر	
Genetype	ذكور	إناث
WW	صفراء	بيضاء
Ww	صفراء	بيضاء
ww	صفراء	صفراء

٣ — وجود أو غياب مواد التفاعل : Substrates

إن أنواع التفاعلات الكيموحيوية التي تحدث داخل الكائن تتوقف بدرجة كبيرة على وجود المواد الموجودة به . وفي كثير من الأحيان يتم بناء أو تخليق

هذه المواد عن طريق التأثيرات البنائية للكائن • وغالبا ما يمكن تتبع وجود هـا أو غيابها نتيجة لسيطرة وراثية • فعلى سبيل المثال ، مرض البول الأسود (بلـغة الفينيل كيتون يوريا) Phenyl keton uria يعتبر من الأمراض الوراثية النادرة فى الانسان ، وقد أمكن تشخيصه بوجود حمض الفينيل بيروفيـك Phenylpyruvic acid فى البول • وهو يتسبب عن وجود جين متنحى فى الحالة الأصيلة • وهو مسئول أيضا عن ظهور أعراض أُخَر كالعته المبكـر Early Idiocy • ولقد اتضح أن أعراض هذا المرض تنشأ من تجميع الحمض الأمينى فينيل ألانين Phenylalanine ، وهو مادة تنتج من إنحـلال البروتينات وتستعمل فى بناء مركبات أُخَر • ويُعتَقد أنّ تجمع حمض الفينيل ألانين ينتج بسبب عدم وجود أو عدم تنشيط إنزيم كبدى معين ، هو إنزيم Phenyl-alanine hydroxlase حيث يمنع تحويل حمض الفينيل ألانين إلـى الحمض الأمينى تيروسين Tyrosine ، وبمعرفة تدخّل مثل هذه المواد أمكـن معالجة المرض بنجاح فى كثير من الأحوال ، وذلك بتحديد نوعية الوجبات حيث تكون هذه الوجبات فقيرة نسبيا فى الفينيل ألانين • وكمثال آخر " مرض السـكر " ، حيث أنه أكثر إنتشارا بين الناس من المرض السابق ، وهو يوجد عادة بنسبة ٢ـ٥٪ • ومن حسن الحظ فإن معرفة المواد المتداخلة مع فعل الجينات المسيطرة على هـذا المرض قد مَكّن المرضى من ممارسة حياة طبيعية فى كثير من الأحيان • ففى مرض البول السكرى نجد أنّ مستوى السكر فى الدم الذى ينظم عن طريق هرمون الانسولين Insulin الذى يفرزه البنكرياس يكون مُختلّا • وتكون أعراض ذلك ارتفاع فـى مستوى كمية السكر فى الدم وإفرازا له فى البول • وتؤدى هذه الأعراض إلى تغيير فى العمليات البنائية للجسم ، فبدلا من استعمال السكر للطاقة تستعمل الأحماض

الدهينة • وينتج عن ذلك الهزال وسرعة الشعور بالتعب ثم الموت • ومعالجة المرضى تتطلب التحكم فى إستهلاك السكر والمواد الكربوهيدراتية • وإذا تطلب الأمر يستعمل الانسولين •

ويبين المثالان السابقان أنه عند تمييز المواد المتداخلة مع فعل الجينات فإنه يمكن التأثير على تعبيرها — أى أننا اقترننا من البيئة الكيميائية المباشرة للجينات • ومن ذلك نرى وجود صورتين لهذه العلاقات البيئية • فالجينات تساهم فى خلق هذه البيئات كما أنها تتأثر بها •

المظاهر النسخية Phenocopies :

سبق أن ذكرنا أنّ مظهر الفرد يتحدد نتيجة للتجاوب أو التفاعل بين التركيب الوراثى والظروف البيئية • لذلك فإنه ليس من الغريب أن نجد أنّ بعض الصفات يتغير مظهرها نتيجة لتغير ظروف البيئة المحيطة بها ، لتعطى مظهرا مماثلا لطفرة معروفة ويعرف هذا المثيل بأنه نُسخَة مظهرية Phenocopy لهذه الطفرة • ويجب ملاحظة أنّ هذه المظاهر النسخية لا تُورّث ، وتعطى أفرادها نسلا طبيعيا ، بخلاف الطفرة فإنها تورث •

ومن الأمثلة المعروفة للمظاهر النسخية الآتى :

١ — فى حشرة الدروسوفلا ميلانوجاستر توجد طفرة تعرف بأصفر الجسم Yellow body وقد أمكن نسخ هذه الطفرة مظهريا ، حيث أُضيفَ إلى غذاء يرقات الحشرات البرية (الرمادية) قليل من نترات الفضة • فكانت الحشرات الكاملة الناتجة عن هذه اليرقات ذات لون أصفر بدلا من اللون الرمادى ، وعندما تركت هذه الحشرات الصفراء (المنسوخة) للتكاثر كان النسل كله رماديا • وذلك

تحت ظروف التغذية العادية •

٢ — فى الدجاج تعرف طفرة متنحية تسمى " عديم العجز Rumplessness " تعطل تكوين العَجُز وريش الذيل • وقد أمكن إحداث نفس هذه الصفة كمظهر نسخى عن طريق حقن البيض العادى — الذى لا يحتوى على الأليل عديم العجز بالانسولين قبل التفريخ •

كما أمكن أيضا إحداث ذلك بطرق بيئية أخرى كرج البيض •

المرض الوراثى : The Genetic Disease

يعتقد كثير من الناس أنّ المرض الوراثى عِلّة خِلْقية لا خلاص منها ، وقد نشأ هذا الاعتقاد نتيجة لعدم التمييز بين التركيب الوراثى وتعبيره المظهرى ، وفى الحقيقة لا تعرف طريقة يمكن بها تغيير التركيب الجينى لفرد ما فى الاتجاه المرغوب ، ومن ثم لا سبيل إلى إزالة الأساس الجينى للمرض الوراثى ، غير أنّ الصحة والمرض هما حالتان مظهريتان نتيجة للتفاعل بين التوارث والبيئة ، وعلى ذلك فان هذا المظهر عرضة للتحوّر بتحوّر أى منهما •

فصفة الألبينو Albinism (عدو الشمس) ومرض تشقق وتلّون الجلد زيرودرما بجمنتوزم " Zeroderma pigmentosum " صفتان نادرتان فى الانسان ، فالشخص الألبينو لا يحتوى فى جلده ، وشعره وقزحية عينه على الصبغة الداكنة (الميلانين) فقد يعانى حروقا خطيرة عند تعرضه لضوء الشمس ، أما مرض تشقق وتلّون الجلد فهو حالة أشد خطورة حيث تظهر بقع نمشية كبيرة بجلد الأشخاص الحاملين للجين المسبب لهذا المرض عند تعرضهم للشمس وهذه البقع شديدة الحساسية لدرجة أنها فى بعض الحالات الشديدة قد تنقلب إلى سرطانات جلدية •

وكلا المرضين وراثى — الأول ناشىء عن وجود جين متنحى ، والثانى عن وجود جين سائد • غير أنه لو أمكن حماية الأشخاص الألبينو لأنفسهم من حروق الشمس ، فإنهم لن يعانوا إلا قليلا من هذا المرض الوراثى ، كما أن تجنب الضوء يسمح للأشخاص المصابين بمرض تشقق وتلون الجلد بقضاء حياة طبيعية معقولة ، رغم احتفاظهم بالامكانيات الموروثة •

وعلى ذلك ، فليس هناك تمييز قاطع بين الأمراض الوراثية وغير الوراثية ،

وعليه يمكن القول بأن (المرض الوراثى) هو مظهر سوء التلاؤم فى البيئة التى يعيش فيها نتيجة لتفاعل تركيب وراثى نادر مع هذه البيئة .

التوائم واستخدامها فى تحديد
أثر كل من البيئة والوراثة على الصفات البشرية

أنواع التوائم :

يوجد نوعان من التوائم كل منهما مختلف عن الآخر فى منشئه (انظر الشكل ١ـ١) :

١ ـ التوائم الصنوية Identical Twins :

هى التوائم المتشابهة فى الجنس والتركيب الوراثى ، وكذلك الشكل المظهرى حيث يصعب التمييز بينهما وذلك للتشابه الكبير بينهما . ويستمر هذا التشابه حتى لو رُبِّىَ كل منهما عقب الولادة مباشرة ـ منفصلا عن الآخر تحت ظروف بيئية مختلفة . وتنشأ مثل هذه التوائم من بيضة واحدة تخصب بحيوان منوى واحد ـ لذلك تسمى هذه التوائم وحيدة الزيجوت Monozygotic Twins . ثم يحدث بعد ذلك لأسباب غير معروفة للآن أن تنقسم البويضة المخصبة إلى جنينين .

٢ ـ التوائم اللاصنوية Fraternal Twins :

هى التوائم غير المتشابهة فى التركيب الوراثى أو الشكل المظهرى . وقد تكون متشابهة أو غير متشابهة جنسيا ، والعلاقة بينهما لا تزيد عن كونها علاقة بين إخوة أشقاء وُلِدُوا على فترات غير متباعدة من نفس الأبوين . ولكن تمتاز هذه التوائم

غير الصنوية عن الأشقاء العادية فى أنهما إشتركا معا فى نفس الظروف البيئية الداخلية للأم أثناء فترة الحمل • وتظهر مثل هذه التوائم لأن الأنثى تفرز بويضتين بدلا من بويضة واحدة • وفى نفس الوقت تخصب كل بويضة بحيوان منوى مختلف • وتبعا لذلك تسمى مثل هذه التوائم " ثنائية الزيجوت Dizygotic Twins •

طرق تحديد نوع التوائم :

١ — عند الولادة يكون التوائم الصنوية لهما غشاء جنينى واحد Chorionic membrane • أما التوائم اللاصنوية فيكون لهما غشاءين جنينيين مستقلين • ولكن هذه الطريقة ليست دقيقة تماما ، حيث وجد أنه من الممكن للتوائم الصنوية أن يكون لكلٍّ منهما غشاء جنينى خاص منفصل عن الآخر ، وهذا واضح إذا ما عرف أنّ غشاء المشيمة Chorion يتكون بواسطة الجنين ، فإذا ما انفصل كلّ من الجنينين مبكرا أثناء التكوين، فتبعا لذلك سيكون كل منهما صِنوًا للآخر كُلّ فى غشائه الجنينى المنفصل •

ومن المعتقد الآن أنه إذا وجد توأمان بغشائين جنينيين فإما أن يكونا صنوين أو غير صنوين ولكنه غالبا ما يكونان غير صنوين • وعندما توجد توائم بكيس جنينى واحد فهى بالتأكيد صنوية •

٢ — الطرق الحديثة لتحديد نوع التوأم ظهرت أولا بواسطة الطبيب الهولندى Siemens عام ١٩٢٣ • وتختص هذه الطرق أساسيا فى إختبار التوأمين لسلسلة إختبارات فى الصفات المعروف عنها أنّها وراثية • والأفراد التى تختلف فى أى صفة من هذه الصفات فهى توائم غير صنوية ومن المستحيل إثبات — بكل تأكيد — التوائم الصنوية بهذه الطرق • ولكن فى الصفات الواضحة الاختلاف كلون العين أو

الشعر وشكل الأنف أو الأيدى أو الأظافر ، أو الجنس كلها تثبت — إذا اختلفت — أن التوائم غير صنوية — وتعتبر مجاميع الدم من أحسن الطرق فى معرفة نوع التوأم ، فيختبر التوأم لجميع فصائل الدم فى الانسان ، فاذا اختلف توأم عن الآخر فى أىّ من هذه المجاميع فمن المؤكد أنها غير صنوية . وبمعرفة مجاميع دم الأبوين فمن الممكن التأكد — بدرجة كبيرة — بعد معرفة احتمال مجاميع دم الأبناء — أنّ التوأمين صنوان او غير صنوان . وعلاوة على ذلك ، من الممكن استخدام بصمات الأصابع Finger prints كما استخدمها جالتون — فى التمييز بين نوعى التوائم، رغم أنه ثبت أنه لا يوجد على الاطلاق فردان لهما نفس بصمة الأصابع إلا للتوائم الصنوية فهى فى العادة ذات بصمات أصابع متماثلة إلى حدٍّ ما .

الأساس الوراثى لمنشأ التوائم :

تعتبر التوائم وخاصة الصنوية منها من أهم الأفراد التى تُستعمل فى الدراسات الوراثية وخاصة ما له علاقة بدراسة أثر العوامل الوراثية أو الظروف البيئية .

وتدل البيانات والمعلومات المتجمعة من كل من نوعى التوائم على أن هذه الظاهرة تعتمد على أساس وراثى . وأنّ كُلّاً من الأب والأم يساهمان وراثيا فى سلوك هذه الظاهرة ، ولكن النظام الوراثى الذى تسلكه هذه الظاهرة يظهر أنه غاية فى التعقيد . وهناك اعتقاد على أنه يرتكز على جينات عديدة ذات درجة نفاذ منخفضة .

ولقد اكتشف حالة تبين بجلاء أن الأب يكون مسئولا عن ظهور بعض حالات التوائم الصنوية . ففى إحدى الدول الآسيوية والتى بها ظاهرة تعدد الزوجات ، تزوج رجل ثلاث زوجات ، ومن العجيب أن حالات الحمل للثلاث كانت جميعها توائم . ومن كل زوجة كانت التوائم متماثلة جنسيا ، وكررت نفس الزوجات نفس التوائم فى ولادات

متتاليـــة ٠

وقد فُسِّرت هذه الحالة على أن التركيب الوراثى للأب يحوى جينات مسئولة عن ظهور التوائم الصنوية ٠

توافق وعدم توافق التوأمين : Concordance/ Discordance of Twins

تعتبر المقارنات النوعية للصفات المختلفة فى أزواج التوائم الصنوية وغيـــر الصنوية أبسط أنواع البيانات التى يمكن الحصول عليها من الدراسات التوءمية ٠ ويقال عن فردى الزوج التوءمى أنهما متوافقان إذا أظهرا أو لم يظهرا معاً الصفة موضـــوع الدراسة ٠ ويشار إلى ذلك بالرموز (+ + أو ـــ ـــ) ، أما إذا أظهر أحدهما فقط الصفة فيقال أنهما غير متوافقين (ويستعمل لذلك الرمز + ـــ) ، ومن الواضـــح أنّ التوائم الصنوية تكون دائما متوافقة فى جميع الصفات الوراثية تامة النفاذ، فى حين أنّ التوائم غير الصنوية تكون أحيانا غير متوافقة لمثل هذه الصفات ٠

وتستعمل هذه الحقيقة فى تمييز التوائم الصنوية وغير الصنوية ٠ فإذا كـا ن الاختلاف فى الصفة يرجع كلية إلى تأثير البيئة ، فيجب أن يتقارب عدد حـــالات التوافق وعدد حالات عدم التوافق فى التوائم الصنوية وغير الصنوية ٠ ويبين الجدول (١٠ ـــ ٢) مقارنة لبعض الأمراض المختلفة من حيث ظهورها فى كلا نـــــوعى التوائـــــم الصنوية وغير الصنوية فى الإنســـــان ٠

جدول (١٠ - ٢) : عرض لحالات توافق وعدم توافق لبعض الصفات الوراثية فى الانسان •

صفة المرض	عدد أزواج التوائم التى درست		النسبة المئوية			
	صنوية	غير صنوية	صنوية		غير صنوية	
			++	— +	* ++	* — +
الحصبة	١٨٩	١٤٦	٩٥	٥	٨٧	١٣
الحمى القرمزية	٣١	٣٠	٦٤	٣٦	٤٧	٥٣
السل	١٩٠	٤٢٧	٧٤	٢٦	٢٨	٧٢
أورام سرطانية **	٦٢	٢٧	٦١	٣٩	٤٤	٥٦
البول السكرى	٦٣	٧٠	٨٤	١٦	٣٧	٦٣

* + + متوافقان ، + — غير متوافقان

** أنواع مختلفة من الأورام •

وعلى الرغم من أن الحصبة والحمى القرمزية والسّل وأمراضا تُنقل عدواها عن طريق البيئة ، فإن نسبة التوافق التوءمى فى حالة السل تزيد إحصائيا بدرجة معنوية بين التوائم الصنوية عنها بين التوائم غير الصنوية . مما يدل بوضوح أن هناك إستعدادا وراثيا لهذا المرض . فتكون بعض الأفراد التى تحمل بعض التراكيب الوراثية المعينة أكثر استعدادا للإصابة بمرض السل عن غيرهم . ولا يعرف ما إذا كان هذا هو الحال فى الحمى القرمزية ، أما فى الحصبة فإن نسبة التوافق فى كلا نوعى التوائم بلغت درجة عالية مما يدل على أن جميع التراكيب الوراثية فى هذه العينة تجعل حامليها قابلين للاصابة بالفيروس المسبب لهذا المرض .

أما فى حالة الأورام السرطانية فيلاحظ أنّه فى حالات التوافق فى التوائم الصنوية أنّ الورم السرطانى عادة واحد لفردى الزوج التوءمى ، بينما كانت الأورام فى فردى التوائم غير الصنوية من نفس النوع أو مختلفة ، مما يدل على وجود إستعداد وراثى بالأفراد لتكوين أنواع معينة من الأورام السرطانية .

وفى حالة البول السكرى يظهر التوافق التوءمى بنسبة أكبر فى التوائم الصنوية عنه فى غير الصنوية . فوجود أو غياب أىّ من هاتين الصفتين يتوقف بدرجة كبيرة على التركيب الوراثى ، ومع ذلك فقد ظهر عدم توافق فى بعض التوائم الصنوية مما يدل على أن تعبير هذه التراكيب الوراثية المسئولة ليس تام النفاذ وأنه يتأثر بالبيئة .

ولدراسة أثر كل من البيئة والوراثة على بعض الصفات الكمية فى الانسان قام فريق من العلماء بنشر بيانات عن التوائم الصنوية وغير الصنوية ربيت معاً أو منفصلة عن بعضها ، وخاصة بهذه الصفات ، كما هو موضح فى الجدول (١٠ــ٣) .

جـــدول (١٠ـ٣) :

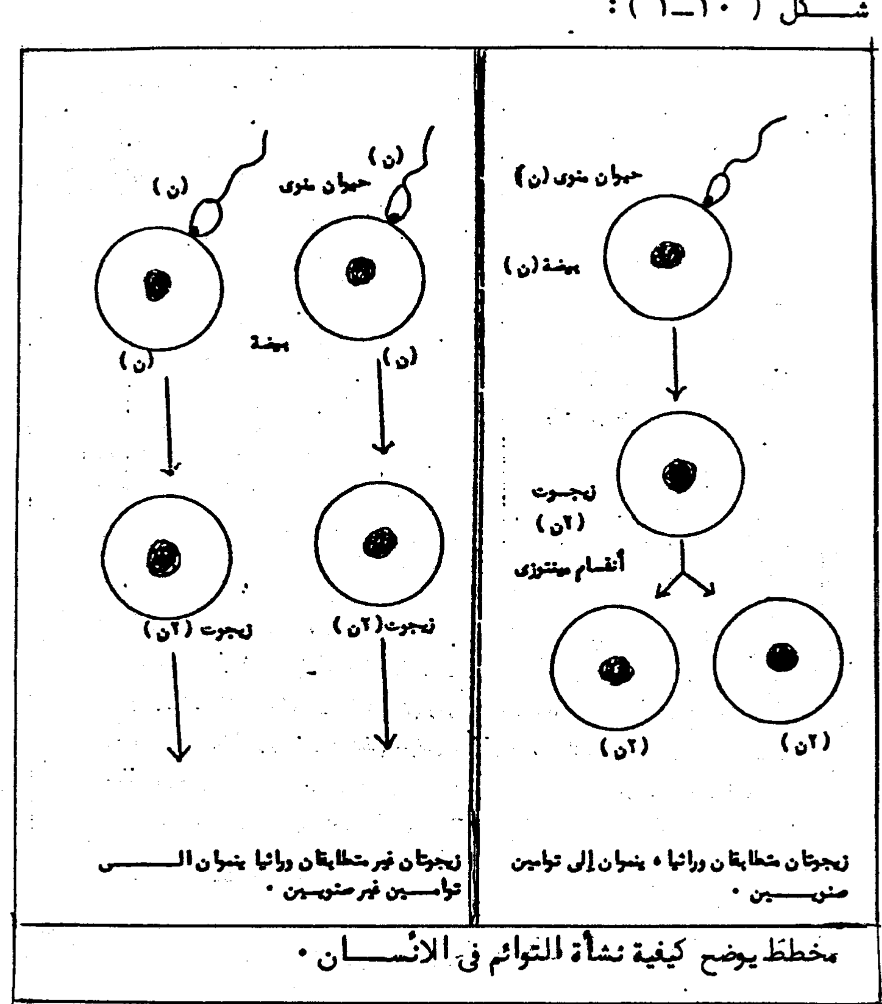
متوسط الفرق بين التوائم الصنوية وغير الصنوية فى بعض الصفات الكمية فى الانســـان

الصفـــة	توائم صنويـــة		توائم غير صنوية	أشقاء غير توائـم
	ربيا معا	ربيا منفصلين	ربيا معا	ربيا معـا
طول الجسم (سم)	١ر٧	١ر٨	٤ر٤	٤ر٥
وزن الجسم (رطل)	٤ر١	٩ر٩	١٠ر ــ	١٠ر٤
طول الرأس (سم)	٢ر٩	٢ر٢	٦ر٢	—
عرض الرأس (سم)	٢ر٨	٢ر٩	٤ر٢	—
مكافىء الذكاء IQ	٥ر٩	٨ر٢	٩ر٩	٩ر٨

ويتضح من الجدول السابق وجود تشابه أكثر بين التوائم الصنوية عن غير الصنوية فى بعض الصفـــات المميزة لشكل الانسان كطول القامة وعرض الرأس ، وذلك بغض النظر عما إذا كانا الصنوين قد ربيا معا أو منفصلين ، مما يدل على ان هذه الصفات تتأثر بالوراثة بدرجة أكبر من تأثرها بالبيئة .

أما فى حالة مكافىء الذكاء فيبدو واضحا من الجدول أن هذه الصفة تتوقف على كل من الوراثة والبيئة بنسب متقاربة تقريبا .

شكل (١٠ ـ ١) :



مخطط يوضح كيفية نشأة التوائم في الانسان .

الباب الحادى عشر
وظيفة وعمل المادة الوراثية
Function of Genetic Material
(تعبير الجينات والشفرة الوراثية)
(Gene Expression and the Genetic Code)

مقدمة :

يتناول هذا الباب الوظيفة الأساسية للمادة الوراثية (الجينات) وهى قدرتها على توجيه عملية التخليق الحيوى للبروتينات فى الخلية ،وبأسلوب وراثى يعرف ذلك بوظيفة وتعبير الجين . ويُعَبِّر الجين عن نفسه عن طريق تخليق بروتين ما ، وذلك من خلال المعلومات المُشَفَّرة فى مقطع الد ن أ الخاص به . وتشمل هذه العملية المعقدة عددا من الخطوات والمكونات سوف نعرضها تحت عمليتين أساسيتين هما : عملية النسخ Transcription وعملية الترجمة Translation. ولكن قبل الدخول فى تفاصيل هذه العمليات سوف نعطى فكرة عن تركيب وتنظيم البروتينات والأحماض الأمينية ، حتى يتمكن القارئ من الالمام بالموضوع فى سهولة ويسر بعيدا عن التفاصيل المعقدة لهذه العمليات الحيوية الأساسية .

بناء البروتين : Protein Structure

تعتبر الأحماض الأمينية Amino acids الوحدات الفرعية الأساسية للبروتينات ويعرف ٢٠ حمضا أمينيا فى البروتينات الطبيعية . وتحظى هذه الأحماض الأمينية - فيما عدا البرولين Proline - ببناء مشترك عام . ويتضمن هذا ذرة كربون ، تسمى كربون ألفا ، حيث يرتبط بها مجموعة ألفا أمين (α- ن يد ٢) ومجموعة كاربوكسيل (α- ك أأ يد) ، وبروتون . وعند درجة تركيز أيون

الهيد روجين pH الموجودة فى معظم الخلايا ، تكون مجموعات α ـ ن يد ٢ ، و α ـ ك أ أ يد للأحماض الأمينية الحرة فى محلول ما فى صورة مُتأيّنة (ـ ن يد ٢ + و ـ ك أ أ−) • أما الجزء المتبقى من كل حمض أمينى فهو فريد ومميز ويرمز له بمجموعة ر (R) (حيث ر إختصار للكلمة Radical) • فمثلا مجموعة ر للحمض الأمينى ألانين Alanine هى ك يد٣ ، ومجموعة ر للفالين Valine هى (ك يد ٣) ٢ ك يد − وهلمّ جرا • ومجموعات ر للأحماض الأمينية تحدد بإتقان معظم الخصائص الكيميائية والبنائية للبروتين •

تصنيف الأحماض الأمينية :

عادة تُصَنّف الأحماض الأمينية حسب الخصائص الكيميائية لمجموعات ر الخاصة بها • فالأحماض الأمينية الحاملة لشحنة سالبة (ـ) فى مجموعة ر والتى تميل لأن تستقبل بروتونات تُسمّى الأحماض الأمينية الأساسية (أو القاعدية) Basic amino acids ، ومنها الليسين Lysine والأرجنين Argenine ، والهستدين Histidine • والأحماض الأمينية الحاملة لشحنة موجبة (+) والتى تميل لأن تفقد بروتونات من مجموعات ـ ك أ أ يد الواقعة فى مجموعات ر الخاصة بها تسمى بالأحماض الأمينية الحمضية Acidic amino acids ومن أمثلتها حمض الأسبرتيك Aspartic acid ، وحمض الجلوتاميك Glutamic acid • وهناك فئات أُخَر من الأحماض الأمينية غير مُعرّفة بالتحديد ، وهى تتضمن الأحماض الأمينية العطرية Aromatic amino acids ، وهى تحظى بحلقات كربونية غير مشبعة فى مجموعاتها ر ، وهذه تتضمن الحمضين الأمينيين الكبريتيين ، وهما الميثونين Methionine والسستين Cysteine ، وهما يحملان ذرة كبريت •

ومبين فى الشكل (١١ـ١) البناء المشترك العام للأحماض الأمينية المعروفة باستثناء البرولين حيث له تركيبه الخاص ،كذلك ذكرت أو سماء هذه الأحماض ورموزها المختصرة •

$$
\begin{array}{c} R \\ | \\ H_2N—CH—COOH \end{array}
$$

amino acids

alanine (ala)	leucine (leu)
arginine (arg)	lysine (lys)
asparagine (asn)	methionine (met)
aspartic acid (asp)	phenylalanine (phe)
cysteine (cys)	proline (pro)
glutamine (gln)	serine (ser)
glutamic acid (glu)	threonine (thr)
glycine (gly)	tryptophan (trp)
histidine (his)	tyrosine (tyr)
isoleucine (ile)	valine (val)

شكل (١١ـ١) : الأحماض الأمينية العشرون ومختصرات أسمائها ، وكذلك البناء المشترك العام لها (باستثنـــاء البروليـــن) .

كيفية بنـــاء الببتيـــدة :

يمكن للأحماض الأمينية أن تصبح مرتبطة ببعضها بالطريقة التالية : تتفاعل مجموعة الـ α ـ ن يد ٢ لحمض أميني ما مع مجموعة الـ α ـ ك أ أ يد لحمض أميـــني آخر ويستبعد جزئ واحد من الماء وتتكون رابطة ـ ك ـ ن تعرف باسم الرابطـــة الببتيدية . وعندما يُربط معاً إثنان أو أكثر من الأحماض الأمينية بهذه الطريقـــة ، يعرف الناتج المتبلمر باسم ببتيدة Peptide (مثلا ببتيدة ثنائية بمعنى أنهـــا مكونة من حمضين أمينيين ، وببتيدة ثلاثية ، أى متكونة من ثلاثة أحماض) والببتيـدة المحتوية على عدد من الأحماض الأمينية المتباينة تسمى متعددة ببتيـــــدات Polypeptide chain.

إنّ البناء الأولى لسلسلة متعددة الببتيدات هو ـ ببساطة ـ تتابع أحماضها الأمينية . وتُكوّن هذه السلسلة الفردية إلتواءات مميزة ولفّات حول نفسها (البناء

الثانوى) لتحظى - بعدئذٍ بشكل إجمالى مميز من الناحية الفراغية (البناء الثالوثى)
وقد تقوم إثنتان ، أو ثلاث أو عديد من متعددات الببتيدات بالارتباط الواحدة مع
الأخرى لتكون بروتينا . والبروتين الناتج يحظى ببناء رابوعى . ولعل الهيموجلوبين
هو أحسن مثل معروف لبروتين قليل البلمرة كهذا ، وهو يحتوى على أربعة سلاسل
منفصلة من متعددات الببتيدات تسمى الجلوبينات Globines - إثنتان منهما
من نوع ألفا (α) ، والسلسلتان الاخرتان من نوع بيتا β - مثبتتان معا
باتقان ودقة . وفى النهاية جميع هذه التداخلات - الثانوية ، والثالوثية والرابوعية
- تُحَدَّد بواسطة التركيب الأولى لسلسلة (أو سلاسل) متعددة الببتيدات .
وعندما تترابط الأحماض الأمينية المكبرتة فكثيرا ما تُكوِّن روابط كبريتية ثنائية (كب -
كب) والتى تميل لتثبيت البروتين . وحيث أنّ شكل البروتين هو الذى يُحدِّد فى
النهاية نشاطه ، فإن التغيرات فى التتابع الأولى للأحماض الأمينية فى بروتين ما قد
يتسبب فى أنه يتبدّل إلى تشكيل ثانوى أو ثالوثى مغاير ، وبذلك يفقد نشاطه
البيولوجى ، وبطبيعة الحال ، فإنّ مثل هذه التغيرات فى أحماض أمينية من المحتم
أن تسببها طفرات جينية (الباب الخامس - الطفرة على المستوى الجزيئى) .

وتبين المعادلة التالية كيفية تكوين الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية
المتجاورة المكونة لسلسلة ببتيدية أثناء التخليق .

$$\alpha\text{-}NH_2 + \alpha\text{-}COOH \xrightarrow{-(H_2O)} -N-C-$$

ألفا أمين — ألفا كاربوكسيل — فقد جزىء ماء — رابطة ببتيدية

الحمض (١) — الحمض (٢)

السيطرة الوراثية على تخليق البروتين (نظرية جين لكل إنزيم) :

تشير نظرية جين لكل إنزيم "One gene-one enzyme hypothesis" والتى اقترحها كل من العالمين بيدل وتيتم Beadle& Tatum (١٩٤١) أنّ الجينات فى كل صور الكائنات الحية هى التى تتحكم فى التفاعلات الكيميحيوية داخل الخلية ، وأنّ هذه التفاعلات مَرْحلية من خلال مسارات pathways تتم فى سلسلة من الخطوات تقع كل منها تحت سيطرة جين واحد ، كما يتضح من الرسم التالى :

المادة البادئة precurser $\xrightarrow[\text{enz.A (1)}]{\text{Gene A}}$ ناتج product A $\xrightarrow[\text{enz.B (2)}]{\text{Gene B}}$ product B $\xrightarrow[\text{enz.C}]{\text{Gene C}}$ product C(final)

وتفترض هذه النظرية أنّ كل جين يتحكم فى تخليق ووظيفة إنزيم معين . ولقد دُعِّمت هذه النظرية الأساسية تجريبيا فى مختلف الكائنات كالانسان والنبات والحيوان والكائنات الدقيقة ، وكمثال لذلك نعرض مسار التخليق الحيوى لمادة الميلانين Melanin ، وهى الصبغة الأساسية التى تُضْفِى اللون على فراء الثدييات وأيضا فى الكثير من الكائنات كالحشرات وغيرها .

التخليق الحيوى لمادة الميلانين :

يبدأ مسار عملية التخليق الحيوى للميلانين بالحمض الأمينى تيروسين Tyrosine والذى يحدث فيه سلسلة من التفاعلات تتم فى سبعة خطوات تؤدى فى النهاية الى تكوين متبلمر polmer يحتوى على وحدات متكررة من الميلانين (الشكل ١١ـ٢) .

```
           (1)                                              (2)
Tyrosine ----> 3,4 dihydroxy-phenylalanine ---->
                                                             |
             (4)                          (3)                v
dopa chrome <---- Leuco dopa chrome <- dopa quinone
|
v  (5)                   (6)
5,6 dihydroxy indol ----> indol 5,6 quinone --
                                    (7)      |
                           dopa melanin <----
```

شكل (١١-٢) : مخطط يبين مسار التخليق الحيوى لمادة الميلانين فى الثدييات (يتكون المسار من ٧ خطوات)

وتخضع كل خطوة فى المسار لتأثير إنزيم معين يتحكم فى تخليقه جين معين • ولقد أمكن تمييز هذه الانزيمات كنواتج للجينات المقابلة لها ،ووجد أن الجين السائد C المسئول عن اللون فى الكائنات الثدية يتحكم فى تخليق إنزيم المتروسينيز metrocinase وأن أليله المتنحى c والمسئول عن ظهور صفة المهق (Albinism) غير قادر على تخليق هذا الانزيم • كما وجد أليل آخر (c^h أليل الهيمالايا) يمكنه تخليق الانزيم ولكن فى صورة حساسة للحرارة ،فهو أقل نشاطا عند درجة الحرارة العالية (حيث يتوقف نشاطه كلية عند درجة حرارة أعلى من ٩٢° ف) بينما يكون نشاطه عاليا عند درجة الحرارة المنخفضة (أقل من ٩٢° ف)•ولهذا فالقطاط السيامى الأصيلة لهذا الأليل c^hc^h وكذلك الأرانب والفئران وغيرها

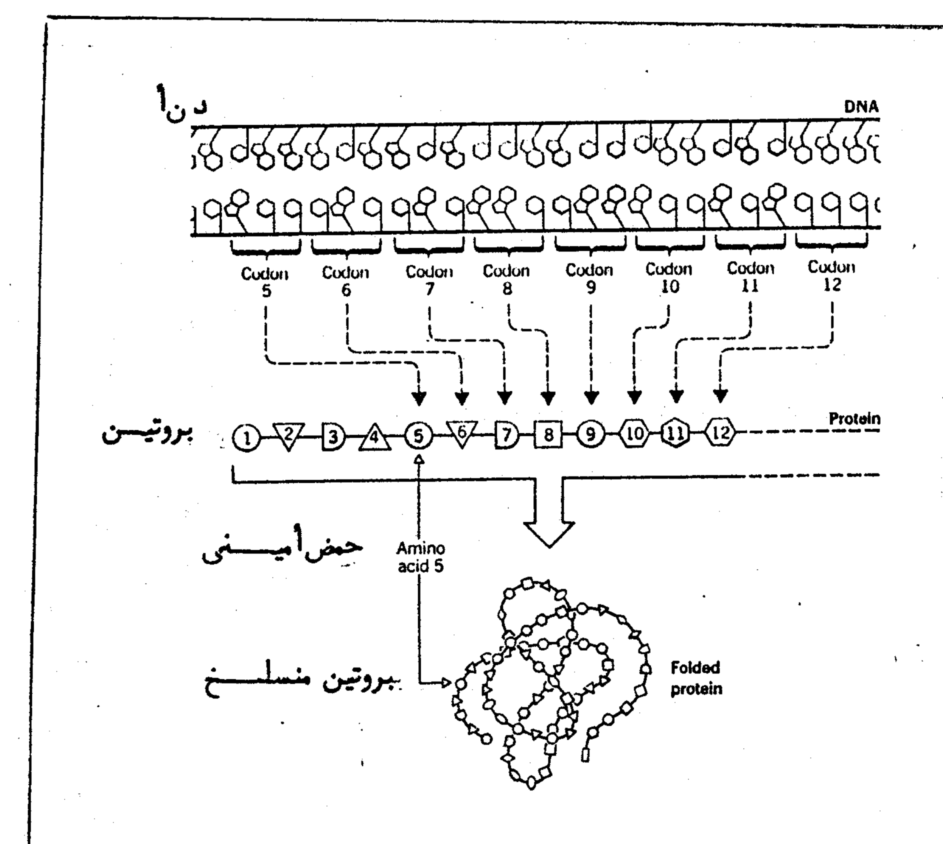
تحمل فراء أدكن لونا عن بقية أجزاء الجسم الداكنـــــة .
وأى طفور فى أى من الجينات المتحكمة فى هذه الانزيمات سوف يؤدى الى تغيير فى الناتـــج النهائـــى وهـــو الميلانيـــن .

ولقد تمكن كثير من العلماء مثل هارتمان Hartman (١٩٧١) وغيره من توضيح العلاقة بين تسلسل الجينات التى تحكم مسار بناء الهستيديـن وترتيبها فى ٩ خطوات كل خطوة يحكمها إنزيم ،منها جين واحد يتحكم فـــى إنزيمين مختلفين فى آن واحد ،وتحقق نفس الشيء فى بناء البرولين والثريونيـن والايزوليوسين وغيرها فى بكتريا السالمونلا Salmonella ، وكذلك حمض التريبتوفان والارابينوز فى بكتريات المعى E.coli وكذلك فـــى البكتريوفاجات . ولقد أجريت تعديلات على هذه النظرية بعدما تبين مـــن الدراسات الحديثة أنّ كثيرا من الانزيمات يتكون من أكثر من سلسلة ببتيديـــة واحدة ،خاصة فى الانزيمات معقدة التركيب ،واتضح أنّ كل جين يتحكم فـــى تخليق سلسلة ببتيدية واحدة ،ولذلك عُدّلت النظرية لتكون "جين لكل سلسلة ببتيديـــة" One gene - one polypeptide hypothesis .

العلاقة بين الدنا وتسلســـل الأحماض الامينيـــة فى البروتيـــن :

فى عام ١٩٥٨ ،كان كريك Crick هو أول من افترض أنّ الدنا هـــو الذى يَتَحكّم فى تحديد تسلسل الأحماض الامينية فى السلسلة (أو السلاســـل) الببتيدية للبروتين . وطالما أنّ هـــذا التسلسل قد تَحدَّد وراثيا ،فســـوف يُحدِّد ذلك التركيب ذا الابعاد الثلاثية للبروتيـــن . وقد لوحظ أيضا ــ منذ البداية ــ أنّ كلا من الجين والسلسلة الببتيدية هما تكوينات ذوات تركيب طـــولى Linear structures ،ففى حالة الجين يكون التركيب هو تتابع النوتيدات

أما فى السلسلة الببتيدية فهو تتابع الأحماض الأمينية • ويترتب على ذلك — فى المقام الأول — أنّ تسلسلا طوليا معيّنا للنوتيدات فى مقطع الدنا الخاص بجين ما ، يجب أنْ يُحَدِّد حمضا أمينيا معينا فى السلسلة الببتيدية المقابلة (الشكل ١١ —٣)، وهذه العلاقة عُرِفَت بالشفرة الوراثية Genetic code (أنظر فيما بعـــد) • ويترتب على ذلك أنه إذا حدثت طفرة فى موقع معين فى تتابع النوتيدات داخـــل الجين ،فيجب أن يقابل ذلك تغييرا مماثلا فى نفس التسلسل للحمض الأمينى فـــى الببتيدة المقابلة ،ويعنى ذلك أنّ تتابع الحمض الأمينى فى السلسلة الببتيديـــة وتتابع النوتيدات فى الدنا هما تتابعان متوازيان colinear sequences (انظر الشكل ١١—٣) ،فالخريطة الوراثية الجزيئية للتغيرات فى النوتيدات يجـــب أنْ تتوازى مع الخريطة الطفورية للتغيرات فى الأحماض الأمينية (أنظر الطفرة علـــى المستوى الجزيئى — الباب الخامس) • ولقد دعمت هذه العلاقة بالأدلة التجريبية القاطعة بالدراسات التى أجراها العالم يانوفسكى Yanofsky ومعاونـــوه (١٩٦٧) عن تخليـــق السلسلة الببتيدية لانزيم التريبتوفان Trp.synthetase فى بكتريات القولون • كما أوضح سارابهاى (عـــام ١٩٦٤) وغيره فيما بعـــد أنّ طفرات الفاج المسماة كهرمانى Amber mut. تُحدِّد السلاسل الببتيديـــة المكونة لبروتين غلاف الفاج وبأطوال مختلفة يمكن ترتيبها لتكون تسلسلا متوازيـــا مع هذه الطفرات ،بمعنى أن كل جين من جينات الطفرات كهرمانى amber يؤثر فى موقع معين فى السلسلة الببتيدية تتجاوب مع موقعه النسبى فى كروموســـوم الفـــاج •



شكل (١١ــ٣) :العلاقة بين المعلومات المشفرة فى ال د نأ وتركيب البروتين • ترتب المعلومات الوراثية فى ال د نأ فى صوره وحدات ثلاثية النوتيدات تسمى الشفرات codons كل شفرة تحدد حمضا أمينيا معينا فى موقع محدد من السلسلة الببتيدية ــ لاحظ التوازى الطولى المشترك colinearity فى تتابعات كل من تركيب ال د نأ والبروتين •

أنواع الحمض النووى الريبوزى (ر ن أ RNA) :

من المعروف أنّ التخليق الحيوى للبروتين يتم فى سيتوبلازم الخلية وبالذات فى الريبوسومات . ولما كانت المعلومات الوراثية مخزنة فى د ن أ فى النواة ، فلابد من وجود وسيط يقوم بنقل هذه المعلومات إلى السيتوبلازم . وقد ثبت بما لا يدع مجالا للشك أنّ هذا الوسيط هو جزيئات الحمض النووى الريبوزى رن أ ، واتضح أنّ رن أ الخلية ليس من نوع واحد متجانس ، بل يوجد منه عدة أنواع تختلف عن بعضها فى الحجم والبناء والوظيفة ، وسوف نتناول فيما يلى أنواع الـ رن أ التى تدخل ضمن عمليتى النسخ والترجمة لتخليق البروتين فى الخلية .

أولا : رن أ المراسلة (م . رن أ mRNA) Messenger RNA:

يرمز لهذا النوع من الحمض النووى الريبوزى بالرمز م . رن أ mRNA ، ووظيفته الأساسية نَسْخ المعلومات الوراثية المسجلة شفريا فى الخيط الفعال sense strand من خيطى جزىء الـ د ن أ الذى يتكون منه الجين الذى يسيطر وراثيا على تخليق بروتين ما ، وتتميز جزيئات الـ م . رن أ بالخصائص التالية :

(١) تتكون جزيئاته من خيوط طويلة نسبيا يتراوح عدد القواعد النوتيدية بها من عدة مئات الى عدة آلاف ، تبعا لطول السلسلة الببتيدية التى سيكونها .

(٢) يتخلق فى وجود انزيم بلمرة الـ م . رن أ mRNA polymerase على طول جزىء الـ د ن أ المكون للجين والذى يعمل كقالب له ناسخا نسخة من الشفرات الوراثية المسجلة فيه ، وتسمى هذه العملية النَّسْخ .

(٣) تقوم جزيئات الـ م . رن أ بنقل الشفرة الوراثية الى منطقة الريبوسومات فى سيتوبلازم الخلية .

(٤) تتخلق جزيئاته بسرعة فائقة قدرت بحوالى ٥٠ نوتيدة فى الثانية .

(٥) تكون جزيئاته قصيرة العمر (عدة دقائق) .

(٦) يستخدم كل جزئ من جزيئاته من ١٠ـ٢٠ مرة ثم يتحلل بعد ذلك .

ثانيا : رن أ مترجم الشفرة (ت . رن أ) tRNA) Transfer RNA:

يرمز له بالرمز ت . رن أ tRNA وتتميز جزيئاته بالخصائص التالية :

(١) تكون جزيئاته قصيرة نسبيا ،حيث يتكون كل جزئ من حوالى ٨٠ نوتيدة .

(٢) له بناء معقد التركيب .

(٣) تحتوى جزيئاته على عدد من القواعد المحورة .

(٤) تكون جزيئاته ذات أبعاد ثلاثية أو رباعية على شكل ورقة البرسيم .

(٥) جزيئاته ذات خصائص مشتركة ،حيث يحمل الطرف ك ـ ٣َ تتابعا ثلاثيا من القواعد (س س أ = CCA) .

(٦) يحمل كل جزئ تتابعا ثلاثيا مختلفا من القواعد على الطرف الآخر يسمى الشفرة المضادة (أنتى كودون Anticodon) ،وهذه تتزاوج مؤقتا مع شفرة ثلاثية Triplet codon مقابلة فى جزئ الم . رن أ فى الريبوسوم .

(٧) يعرف منه حوالى ٢٠ نوعا حسب عدد الأحماض الأمينية المعروفة . ويتعرف كل نوع منه على حمض أمينى معين حسب ماتحدده الشفرة الوراثية ،ويتصيده من السيتوبلازم ويرتبط به فى وجود أحد إنزيمات تخليق الأمينو أسيل ت . رن أ (Amineacyl-tRNA synthetase) حيث يوجد حوالى ٢٠ نوعا من هذا الانزيم أيضا ،وكل إنزيم يتداخل مع حمض أمينى معين ومع جزئ خاص من الـ ت . رن أ ،وبذلك يتكون حوالى ٢٠ جزيئا من جزيئات رن أ المشحونة بالأحماض الأمينية تسمى

" أمينو أسيل ت٠رن أ Aminoacyl-tRNAs " (الشكل ١١ـ٤) .

(٨) يقوم بنقل الأحماض الأمينية وتجميعها في الريبوسومات ، أي أنّ وظيفته ترجمة الشفرة الوراثية إلى أحماض أمينية ذات تتابعات محددة في السلسلة الببتيدية .

ثالثا : رن أ الريبوسومي (رن رن أ = rRNA) Ribosomal RNA:

ويرمز له بالرمز ر٠رن أ rRNA ، وهو مُكوِّن أساسي للوظائف الخلوية لترجمة الرسائل الوراثية الى بروتين . ويتمز بالخصائص التالية :

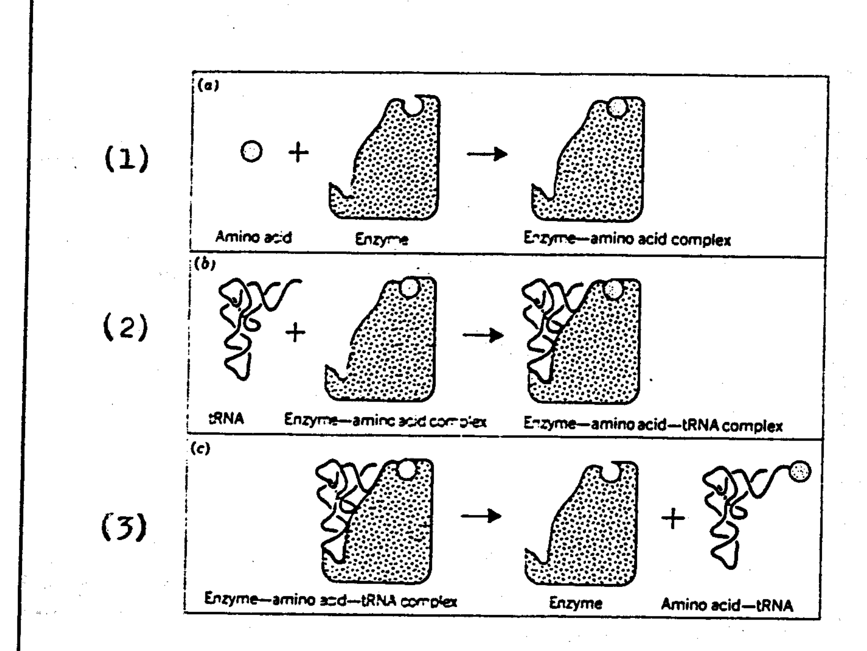
(١) تحتاج إليه الخلية بكميات كبيرة مثل الـ ت٠رن أ .

(٢) تحتوى كل خلية على ثلاثة أنواع منه تتداخل مع حوالى ٥٠ نوعا من البروتين الريبوسومى . وينتج عن هذا التداخل تكوين الجسيمات المميزة المعروفة بالوحدات الفرعية الريبوسومية الكبيرة والصغيرة ، والتى تتحد عند بداية تخليق البروتين لتكوّن الريبوسومات الكاملة .

(٣) تحتوى جزيئاته على الشفرات الوراثية المنسوخة من الـ د ن أ المكـوّن للجين .

(٤) أثناء تخليق البروتين يتوسط فى التعرف على حدث الشفرة والشفرة المضادة ، حيث يساعد الريبوسوم على تكوين روابط ببتيدية ما بين الأحماض الأمينية .

ويمكن تتمييز أنواع الـ ر٠رن أ الموجودة فى ريبوسوم ما بواسطة الطرد المركزى فى محلول من السكروز . وبأساليب تحليلية معروفة ، يمكن حساب معامل الترسيب Sedimentation Coefficient (S) لكل نوع من أنواع الـ ر٠رن أ معبرا عنه بوحدات Svedberg units وكقاعدة عامة ، كلما كبر



شكل (١١ــ٤) : مخطط يوضح كيفية ارتباط حمض أميني بجزئ ت.رن أ :
(١) يتعرف إنزيم أمينو أسيل ت.رن أ على حمض أميني ويرتبط به . وكل حمض أميني له إنزيم مختلف يتعرف عليه . (٢) يتعرف كل إنزيم على جزئ ت.رن أ خاص ويرتبط معه ويربط معه الحمض الأميني الخاص به مكونا جزئ أمينو أسيل ت.رن أ . (٣) يتحرر جزئ الأمينو أسيل المشحون بالحمض الأميني من الانزيم تاركا إياه لتكرار العملية .

المرجع: Understanding DNA and Gene Cloning, Karl Drlica (1984).

الجزيء الضخم كلما كبرت القيمة (S) ،ويتوقف ذلك على نوع الكائن . ففـــى بكتريات المعى (إ .كولاى) تكون الوحدة الفرعية الريبوسومية الكبيرة (50 S) محتوية على ر .رنأ 23 S و 5 S ،بينما تحتوى الوحدة الريبوسومية الصغيـرة (30 S)على ر .رنأ 16 S . وتحظى الكائنات مميزات النوى eukaryotes بجزيئات ر .رنأ ذات وزن جزيئى عالٍ ،و من ثمّ فإنّ الوحدة الفرعية الريبوسومية الكبيرة لها تحتوى ،بصورة عامة ،جزيئا من ر .رنأ 28S وجزيئا آخر من ر .رنأ 5 S ،بينما تحتوى الوحدة الريبوسومية الفرعية الصغيرة ،بصورة عامة ،جزيئا من من ر .رنأ 18 S. لهذا السبب فإنّ الريبوسومات الكاملة لمميزات النوى تكون أكبر حجما وتترسب أسرع فى محلـول السكروز عن ريبوسومات بدائيات النـــوى فالاولى تسمى ريبوسومات 80S ،والاخيرة يرمز لها بريبوسومـــــات 70 S.

الشفرة الوراثية The Genetic Code :

كان من الواضح لعدد من الباحثين ــ وحتى أواخر الخمسينيات ــ أن متعددات الببتيدات هى النواتج النهائية للجينات ، وأنّ تخليق ببتيدة مُتعددة يتضمن ترتيب الأحماض الأمينية بتتابع محدد ، وأنّ هذه المعلومات تكون شفرتها مُخزّنة عن طريـــق تتابع النوتيدات فى جين ما . ولقد كانت الأساليب التجريبية المستعملة فى حل رموز شفرة الوراثة ــ فى أوائل الستينات مزيجا عَطِراً من الوراثة والكيمياء الحيوية ، أمـــا النتائج فقد أحدثت ــ دون تساؤل ــ ثورة هائلة فى العلوم البيولوجيــة .

الجين والشفرة الوراثيـــة :

على أساس فيزيائى يعتبر الجين مقطعا من الدنأ يتراوح ما بين عـــدة مئات الى عدة آلاف من أزواج النوتيدات . أما من الناحية الوظيفية ،فيمكننا وضع

تعريف آخر للجين إذا أخذنا فى الاعتبار الخصائص الهامة لتحويل المعلومات الوراثية المخزنة شفريا فى الد ن أ الى بروتين ، فبادئ ذى بدء لكل جين بداية ونهاية ، حيث توجد تتابعات sequences من النوتيدات تعطى إشارات تحدد أين يبدأ الجين ، كما توجد تتابعات أخر تحدد أين ينتهى الجين . وقد وجد أن المعلومات الوراثية المشفرة فى الجين تترتب على شكل كلمات وليس على شكل حروف مفردة . وهذا بسبب أن البروتينات ـ وهى تتكون أيضا من سلاسل طولية linear من الوحدات الفرعية من الاحماض الامينية ـ تختلف كلية من الناحية الكيميائية عن الوحدات الفرعية الاربع (النوتيدات) التى تختزن المعلومات الوراثية فى الد ن أ .

الطبيعة الثلاثية للشفرة الوراثية : The Triplet Nature of the Genetic Code

يمكن تعريف الجين بأنه عبارة عن تتابع لعدد من النوتيدات فى الد ن أ .

ويمكن تلخيص العلاقة بين الجين والصفة فى الآتى :

جين ← رن أ ← سلاسل ببتيدية ← بروتين ← مظهر الصفة .

وكما سبق الذكر توجد المعلومات الوراثية مخزنة فى الد ن أ على شكل شفرة حروفها الأساسية هى القواعد النيتروجينية الأربع : الأدنين (أ = A) ـ الثيمين (ث = T) ـ السيتوسين (س = C) ـ الجوانين (ج = G) . ومن المعروف أنه يوجد ٢٠ حمضا أمينيا تتكون منها البروتينات . فكيف تسيطر هذه القواعد الأربعة على شفرات هذه الاحماض العشرين ؟

وحقيقة الأمر أنه توجد أسئلة عديدة تطرح نفسها :

(١) ما هى الشفرة وما طبيعتها وما شكلها ؟

(٢) ماذا تعنى الشفرة الوراثية ؟

(٣) كم عدد النوتيدات التى ترمز لحمض أمينى معين ؟

(٤) ما هو تتابع هذه النوتيدات ؟

(٥) هل الشفرة الوراثية شمولية Universal لكل الكائنات الحية ؟

استكشاف الشفـــــرة الوراثيـــــة : Cracking the Genetic Code

إنّ الذين يحاولون استكشاف طبيعة الشفرة الوراثية سيجدون وبسرعة أنـه إذا كانت نوتيدة واحدة فى جزئ الم . رن أ تُحدِّد حمضا آمينيا واحداً فى بروتين ما ، لتمكنت البروتينات من احتواء أربعة أحماض أمينية فقط ، فى حين أنها فى الحقيقـة تحتوى ٢٠ ، وبالمثل فإن شفرة ثنائية مكونة من جميع احتمالات اثنتين معا مـن النوتيدات الاربع (٤^٢) يمكن أن تُولِّد ستة عشر من التوافيق الشفرية ، وهـذه بدورها مازالت غير كافية لتحتوى الأحماض الأمينية العشرين . ومن ثَمّ ، فإن أبسط الشفرات والتى يمكن تصورها كأداة طيّعة للنظام البيولوجى هى الشـفرة الثلاثيـة Triplet code . وعندما تُعَد جميع التوافيق الثلاثية الممكنة للأربـع نوتيدات ٤^٣ أو ٦٤ نكون قد أعددنا التتابعات المختلفة أو الشفرات الممكنة .

ولقد ثبت بالتجارب المعملية أنّ الشفرة الوراثية ثلاثية.وتسمى الوحـدات الثلاثية فى الد ن أ والتى تحدد كل حمض أمينى فى البروتين الناتج بالكـودون (codon) . فعلى سبيل المثال ،الكودون (TAC) فى الد ن أ يحـدد وجود الحمض الأمينى "سيرين Serine" فى سلسلة بروتينية . وهكذا بالنسبة للشفرات الأخر (أنظر قاموس الشفرة الوراثية G.Codon Dictionary فـى نهاية هذا البـاب: (الجدول ١١-١) والجدول (١١-٢) .

ويجب ملاحظة أنه لا توجد حدود مُجَسَّمة (فواصل) مابين القواعـد داخل الكودون أو مابين الكودونات التى يتكون منها جين ما . ومن الأهميـة بمكان أنْ يُحَدَّد إطار القراءة (reading frame) لكل كودون بمنتهى الدقـة إذ يجب أن تكون الشفرة المسئولة عن إعطاء اشارة البداية (start signal) فى مكانها الصحيح ،وإلاّ لكان البروتين الناتج مغايرا للبروتين الصحيح الـذى يسيطر عليه الجين .ويمكن توضيح ذلك بعرض الجملة التالية والتى تتكون مـن كلمات ثلاثية الحروف:

JOE SAW YOU WIN THE BET

(شفرة البداية)

فاذا قرئت هذه الجملة فى كلمات ثلاثية ابتداء من الحرف O بدلا من الحرف J فلسوف ننتهى الى جملة عديمة المعنى :

OES AWY OUW INT HEB ET

ويترتب على ذلك ضرورة وجود الشفرة الوراثية الخاصة باعطاء إشارة الابتداء فى مكانها الصحيح فى الجين ، وذلك لكى تترتب الأحماض الأمينية الصحيحة فى البروتين الناتج ،وكذلك الحال بالنسبة لشفرة توقف stop signal تخليق هذا البروتين .

مرونة الشفرة الوراثية : Degeneration of the Genetic Code

نظرا لوجود فائض فى عدد الوحدات الشفرية الثلاثية التى يمكن تشكيلها من القواعد الأربع (A , T , C , G) التى تدخل فى تركيب الـ د ن أ (٤^٣ = ٦٤ شفرة ،كما سبق أن ذكرنا) ،وحيث أنه من المفترض أنّ ٢٠ شفرة فقط تكون ضرورية للتحكم فى الـ ٢٠ حمضا أمينيا التى تدخل فى تشكيل كل أنواع البروتينات المعروفة فى النظام البيولوجى ،فقد كان الاحتمال المطروح هو أن الشفرة الوراثية مرنة degenerate بمعنى أنّ حمضا أمينيا واحدا يمكن أن يكون مشفرا له بأكثر من وحدة شفرية ثلاثية واحدة . وبالطبع ،فانّ الفرض البديل هو أنه يقدر أنّ حوالى ٤٤ من الوحدات الشفرية الثلاثية المفروضة قد تكون غير موجودة البتة فى جزيئات الـ م . ر ن أ mRNA الطبيعية ،أو أنها موجودة ولكنها لاتُشَفِّر لأحماض أمينية . ولقد حققت "تجارب كريك Francis Crick وغيره فى أوائل حقبة الستينات من هذا القرن الطبيعة الثلاثية ومرونة الشفرة

الوراثية (انظر الجداول ١١ـ١ و ١١ـ٢) ٠

في جزئ ام ءرنأ (حامل الرسالة) ـ كما سبق أن ذكرنا ـ يسمى تتابع القواعد التى ترمز لحمض أمينى معين بالكودون codon ، ونظريا يمكن للشفرة الوراثية أن تشتمل على كودونات ذات معنى sense codons وهى التى تُشَفِّر لأحماض أمينية معينة ، وكودونات عديمة المعنى nonsense codons وهذه لا تُتَرْجَم لأحماض أمينية معينة ، ومن المحتمل أن تكون الأخيرة ذات وظائف أُخَر مثل إعطاء إشارات البداية start sign. وإشارات النهاية stop sign (أنظر قاموس الشفرة الوراثية ـ جدول ١١ـ٢) لعمليات تخليق السلاسل عديدة الببتيدات للبروتين ٠

ويقصد بمرونة الشفرة الثلاثية أنّ أكثر من كودون واحد يمكنه أن يشفر لحمض أمينى واحد ٠ فمثلا الكودونات ى ى ى و ى ى س تشفر لحمض الفينيل ألانين ، بينما نجد أنّ الحمض الأمينى جليسين يُشَفَّر له بأربع ثلاثيات جميعها يبدأ بـ ج ج ، وهى ج ج ى ، ج ج س ، ج ج أ و ج ج ج بينما نجد أنّ حمض التريبتوفان له كودون واحد فقط هو (ى ى ج) وكذلك حمض المثيونين (أ ى ج) ، ولمعرفة بقية الشفرات أنظر قاموس الشفرة Codon Dictionary فى الجدول ١١ـ١ بالعربية وفى الجدول ١١ـ٢ بالانجليزية ٠

أنماط الشفرة الوراثية : Patterns of Genetic Code

عندما نستعرض قاموس الشفرة الوراثية والمحدد بأربع وستين كلمة والمدون فى الجدول ١١ـ١ يمكننا أن نستنتج منه نمطين مميزين :

النمط الأول : هو أن الأحماض الأمينية ذات الخصائص البنائية المتماثلة فى تركيبها الى حد كبير تميل لأنْ تحظى بوحدات شِفْرية ثلاثية بينها قرابة ، فمثلا

شفرات حمض الأسبارتيك Aspartic acid وهى (ج أ س ، ج أ ى) تكون متماثلة مع زميلاتها الوحدات الشفرية الخاصة بحمض الجلوتاميك Glutamic acid وهى (ج أج ،ج أأ) ،وبالمثل نجد أن الوحدات الشفرية للأحماض الأمينية العطرية Aromatic AA مثل الفينيل ألانين Phenylalanine وهى (ى ى س ،ى ى ى) والتيروسين Tyrosine (ى أ س ،ى أ ى) جميعها تبدأ بالقاعدة يوراسيل . وسِمَة كهذه لشفرة الوراثة يعتقد أنها نشأت للتقليل من تبعات نواتج الأخطاء التى تُرتكب أثناء ترجمة المعلومات الوراثية أو أثناء استبدالات القواعد نتيجة للطفرة ،ومن ثمّ ،فاذا استُبدِل حمض أمينى ما فى بروتين ما خطأً بآخر ذى خصائص مشتركة ،فيحتمل أن يظل البروتين فعالا .

النمط الثانى : هو أنه فى العديد من الوحدات الشّفرية المترادفة المُحدِّدة لنفس الحمض الأمينى تكون أول قاعدتين فى كل وحدة ثلاثية ثابتتين لاتتغيران ، فى حين أن القاعدة الثالثة قد تختلف ،فمثلا نجد أنّ جميع الوحدات الشِّفرية المبتدئة بـ(س س) تُحدِّد الحمض الأمينى برولين Proline وهى (س س ى ،س س س ،س س أ ،س س ج) ،وبالمثل كما فى حالة الجليسين ، كما سبق أن ذكرنا ،توجد ٤ شفرات جميعها يبدأ بـ(ج ج) ،وكذلك فى حالة الثريونين ،حيث توجد له ثلاث شفرات جميعها يبدأ بـ(أ س) ،وقد تساعد هذه المرونة للقاعدة الثالثة من وحدة شفرية ما فى تقليل تبعات الأخطاء التى تؤدى الى طفرات ضارة .

التجارب العملية التى استعملت فى استكشاف الشفرة الوراثية :

قد يتطرق الى الذهن أن البيانات الموجودة فى الجدول (١١ـ٢) ليست الا افتراضات بعيدة التحقيق . والحقيقة أن تحديد الشفرات الوراثية فى

الانبوب(in vitro) قد تم بالفعل فى أوائل حقبة الستينات من هـذا القرن فى مَعَامِل العالِمَيْن نيرنبرج وخورانا • والاسلوب الذى تحقق به هـذا الانجاز الضخم جاء عن طريق تركيب متعددة نوتيدات ريبوزية صناعيا تحتوى نوعا أو نوعين أو ثلاثة أنواع من القواعد ،ثم عُرِّضت هذه الى نظام متكامل غير خلبيوى لتخليق البروتين (الريبوسومات الضرورية لتخليق متعددة الببتديات) •بعدئذ تم تحليل متعددات الببتيدات المُخَلّقَة تحت نظام الانبـوب•

وفى الحالات التى احتوى فيها م•رنأ المصنع معمليا نوتيدة واحـدة مكررةـى مثلاـ كان الناتج متعددة من الفينيل الانين • وبفرض أن الشفـرة ثلاثية triplet ،فهذه التجـربة تشير الى أنّ (ى ى ى) هـى شفرة الفينيل ألانين • وبالمثل فإنّ متعددة نوتيدات (س) توجه تخليـق متعددة ببتيدات البرولين proline ، ومتعددة (أ) خاصة بالليسـين •

وعند ماصنعت متبلمرات مشتركة بتوافيق مختلفة ،أمكن حصر جميع احتمالات الوحدات الثلاثية التى تحتويها • فعلى سبيل المثال ،عند ما خلِّقت متعددة نوتيدات من أنصبة متساوية من (أ) و (س) ثمانى وحدات ثلاثية مختلفة هـى : سأس ـ أأس ـ أأأ ـ أسأ ـ أ س س ـ س س س ـ س س أ ـ س أأ) نتجت متعددة ببتيدات من ستة أحماض أمينية هى أسبرجين ـ جلوتامين ـ هستيدين ليسين ـ ثريولين ـ برولين •

وبتجارب كهذه أمكن فى كثير من الأحيان استنتاج مكونات الشفرات الثلاثيـة دون الترتيب النهائى لها • وهناك طرق أخرى أكثر تعقيدا لتحديد الترتيب النهائى الداخلى للقواعد داخل وحدة شفرية معينة • وقد أرست هذه التجارب تحديد الشفرات للأحماض الأمينية بقدر لا بأس به من التأكيد (انظرالجدول ١١ ـ٢) •

جدول (١١ ـ ١) : قاموس الشفرة الوراثية ، (لاحظ مرونة الشفرة ، كل حمض أميني له أكثر من شفرة) . انظر جدول (١١ ـ ٢ أيضا)

الموقع الأول (الطرف ٥ للدم ٠رن أ)	الموقع الثاني قراءة شاملة ى	س	أ	ج	الموقع الثالث (الطرف ٣) قراءة لأسفل
ى	في	سر	تير	سيس	ى
	في	سر	تير	سيس	س
	ليو	سر	توقف	توقف	أ
	ليو	سر	توقف	ترب	ج
س	ليو	برو	هيس	أرج	ى
	ليو	برو	هيس	أرج	س
	ليو	برو	جلين	أرج	أ
	ليو	برو	جلن	أرج	ج
أ	أل	ثر	أسن	سر	ى
	أل	ثر	أسن	سر	س
	أل	ثر	ليس	أرج	أ
	مث (بداية)	ثر	ليس	أرج	ج
ج	قال	ألا	أسب	جلي	ى
	قال	ألا	أسب	جلي	س
	قال	ألا	جلو	جلي	أ
	قال (بداية)	ألا	ألا	جلي	ج

بداية = استهلال عملية بناء الببتيدة ، توقف = توقف بناء الببتيدة (شفرة عديمة المعنى)

جدول (١١ ـ ٢) : قاموس الشفرة الوراثيـــــــة باللغة الانجليزيـــة .

THE GENETIC CODE

1st ↓ 2nd →	U	C	A	G	↓ 3rd
U	PHE	SER	TYR	CYS	U
	PHE	SER	TYR	CYS	C
	LEU	SER	STOP	STOP	A
	LEU	SER	STOP	TRP	G
C	LEU	PRO	HIS	ARG	U
	LEU	PRO	HIS	ARG	C
	LEU	PRO	GLN	ARG	A
	LEU	PRO	GLN	ARG	G
A	ILEU	THR	ASN	SER	U
	ILEU	THR	ASN	SER	C
	ILEU	THR	LYS	ARG	A
	MET	THR	LYS	ARG	G
G	VAL	ALA	ASP	GLY	U
	VAL	ALA	ASP	GLY	C
	VAL	ALA	GLU	GLY	A
	VAL	ALA	GLU	GLY	G

The names of the twenty amino acids and their abbreviations are:

ALA – Alanine
ARG – Arginine
ASN – Asparagine
ASP – Aspartic acid
CYS – Cysteine
GLN – Glutamine
GLU – Glutamic acid
GLY – Glycine
HIS – Histidine
ILEU – Isoleucine
LEU – Leucine
LYS – Lysine
MET – Methionine
PHE – Phenylalanine
PRO – Proline
SER – Serine
THR – Threonine
TRP – Tryptophan
TYR – Tyrosine
VAL – Valine

The abbreviation STOP shows the three triplets which can terminate the polypeptide chain.

تجارب اثبات شمولية الشفرة الوراثية :

في الصفحات القليلة السابقة أجبنا على التساولات التى طُرحت مُسبقا (ص٣٢٧ ماعدا التساؤل الخامس: هل الشفرة الوراثية شمولية Universal لكل الكائنات الحية ؟ والاجابة نعم • فقد أتضح بالتجربة أنّ التتابع النوتيدى فى كودون ما والذى يُوَجِّه حمضاً أمينياً معينا لبروتين البكتريوفاج هو نفس التتابع النوتيدى الذى يوجه ذات الحمض الأمينى فى بروتين الانسان • والأمثلة على ذلك كثيرة ،فمتعددة من (ى س) مُصنّعة معمليا استطاعت أن تُحدِّد الحمض الأمينى سيرين Serine فى مستخلص غير خلوى لتخليق البروتين مأخوذ من بكتريا القولون ،الكلاميد ومونا س وكبد الفأر.أما التجربة التقليدية التى تُذكَر فى هذا المجال والتى تشير دون شك إلى شمولية الشفرة الوراثية فهى تلك التى أجراها العالمان أيرنشتين وليبمان (١٩٦١) • وفيها خُلطت جزيئات من ت• رنأ المشحونة بالأحماض الأمينية المستخلصة من إ •كولاى مع جزيئات م •رنأ وريبوسومات متحصل عليها من خلايا غير ناضجة لكرات الدم الحمر للأرنب• وجاء الناتج النهائى وهو هيموجلوبين الأرنب• وزيادة على ذلك فقد اتضح أنّ الهيموجلوبين المُصنّع فى الأنبوب باستعمال هذا الأسلوب مشابة فى بنائه الأوّلى للهيموجلوبين الطبيعى للأرنب• ،مما لايدع مجالا للشك فى أنّ جزءًا من نظام تخليق البروتين الممثل فى ت•رنأ البكتريا استطاع أنْ يعمل فى تناسق تام مع الجزء الآخر الممثل بـم •رنأ وريبوسومات الأرنب•

والخلاصة إذن هى أنّ الشِّفرة الوراثية شاملة لجميع صور الحياة الراقى منها والدنىء• وهذا يعنى أنّ الكائنات المختلفة متشابهة فى الوحدات الشفرية التى تتعرف عليها جزيئاتها المتباينة من أمينو أسيل ت•رنأ •ومن غير المعروف ما إذا كانت الشفرة الوراثية نشأت بالضرورة ـ ككل فى نفس الوقت منذ أن نشأت

الحياة على سطح الارض(تقدر ب ١—٣ بليون سنة)أم أنها ابتدأت بالقليل من الكودونات ذات المعنى ثم توسعت بالتدرج لتتضمن الكودونات الاربع والستين . ومن المتفق علية أن الشفرة الوراثية أصبحت مثبتة على ماهى عليه فى الوقت الحالى ، لانها تحدد معلومات بيولوجية هامة لدرجة أن تباينات اضافيـــة لا يمكنها أن تبقى فى مواجهة الضغوط التطوريـــة .

تعبير الجيـــن : Gene Expression

(نسخ وترجمة الشفرة الوراثية وتخليق البروتين حيويا)

فى هذا الجزء سوف نتناول كيفية قيام المادة الوراثية بوظيفتها داخـــل الخلية . وبالأسلوب الوراثى يعرف ذلك بوظيفة وتعبير الجيـــن .

وتعبير الجين هو العملية الخاصة بتخليق بروتين ما من المعلومات المخزنة فى الدنأ . وتشمل هذه العملية المعقدة عددا من الخطوات سوف نوجزها فى عمليتى النسخ والترجمة .

(١) النســخ : Transcription

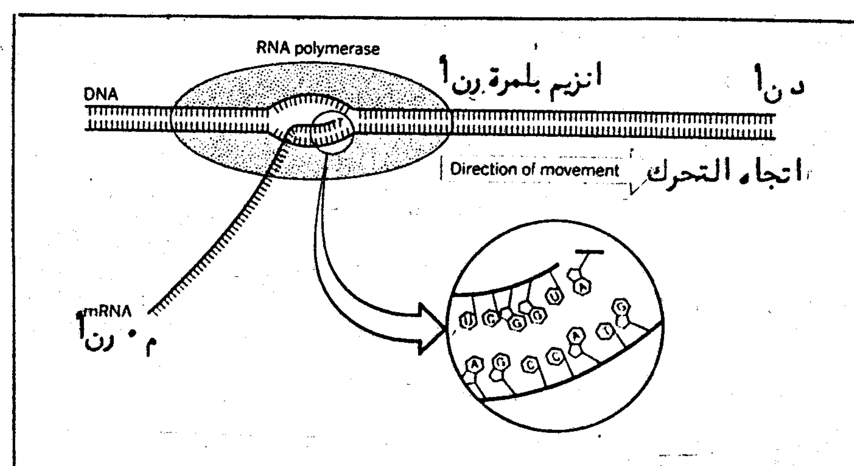
من المعروف أنّ المعلومات الوراثية المخزنة فى مقطع محدد من الدنأ تُنقَل إلى سيتوبلازم الخلية من خلال عملية تسمى النسخ transcription (أنظر الشكل ١١— ٥) . وفى هذه العملية يقوم إنزيم بلمرة الرنأ المعتمد على دنأ DNA-dependent-RNA polymerase (بالتعرف علـــى والارتباط مع تتابع نوتيدات الدنأ بالقرب من أحد طرفى جين ما . ويسمـح هذا التعرف والارتباط لانزيم بلمرة الرنأ باختيار خيط الدنأ الصحيح (لاحظ أن خيطى جزىء الدنأ متكاملان complementary)وليسا متطابقيـــن (not identical) لاستعماله كمصدر للمعلومات . وبعد ذلك يتحرك

إنزيم البلمرة هذا على طول مقطع الجين . وكلما تحرك إنزيم بلمرة الـ رنأ فانه يخلق سلسلة جديدة تربط نوتيدات الـ رنأ - السابحة بحرية فى سيتوبلازم الخلية - مع بعضها . ويلاحظ أن ترتيب النوتيدات فى السلسلة الجديدة المخلقة يتحدد بواسطة نظم تزاوج أزواج القواعد base-pairing rules والتى وضعها عالمى الوراثة واطسون وكريك عام ١٩٥٣ . فاذا كان الحرف الأول الذى يصادفه انزيم بلمرة رنأ فى جزئ الـ د نأ هو القاعدة T ، فان الانزيم سوف يضيف القاعدة A الى السلسلة الجديدة التى يُخلِّقها . وبالمثل لو كان الحرف الثانى فى الـ د نأ هو القاعدة G فان القاعدة C سوف تضاف للسلسلة الجديدة وهكذا دواليك . ويستمر ذلك حتى الوصول إلى إشارة توقف stop signal فى نهاية الجين ، وعندها يبتعد إنزيم بلمرة الـ رنأ عن خيط الـ د نأ ، ثم تنسلخ منه سلسلة الـ م رنأ الجديدة .

وتكون النوتيدات الريبوزية ، وليست النوتيدات دى أوكسى الريبوزية ، هى مواد التفاعل الأولية للبلمرة . وكما سبق الذكر ، تحل القاعدة يوراسيل محل الثيمين فى رنأ ، وبخلاف ذلك فخيط الـ د نأ ينسخ بدقة مطلقة بواسطة انزيم البلمرة . وكتناسخ الـ د نأ تستمر عملية البلمرة فى الاتجاه د ٥َ ←— ٣َ وتكون النُّسَخ ذات قطبية عكسية للقالب ، وبذلك يكون التتابع ٣َ ث أ س أ أ س ٥َ فى د نأ - مثلا - قد ينسخ ك ٥َ أ ى ج ى ى ج ...٣َ فى رنأ .

وكما هو معروف فان الـ رنأ يتكون من سلاسل نوتيدية فردية أقصر من سلاسل الـ د نأ علاوة على بقية الاختلافات التركيبية الأخرى والتى سبق ذكرها (أنظر البناء الكيميائى والفيزيائى للمادة الوراثية ، الباب الثانى) .

إنّ الهدف من النّسخ هو السماح للجين بأن يعبر عن نفسه . والجينات لابد أن تبقى فى كروموسومات حيث يُضْمن لها تناسخها ، والتئامها وانتقالها ،



شكل (١١ــ ٥) : رسم تخطيطى لعملية النسخ Transcription

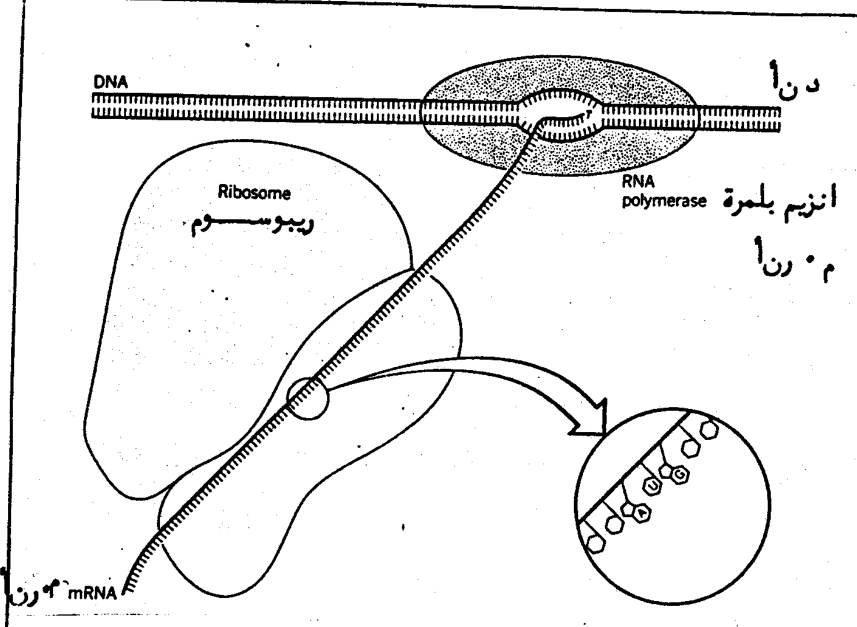
(١) يسبب إنزيم بلمرة الـ رن أ فصل خيطى الـ د ن أ خلال منطقـــة قصيرة على الكروموسوم (مابين ١٠ــ٢٠ زوج قواعد) .

(٢) يتحرك إنزيم البلمرة على طول الـ د ن أ ،مكونا سلسلة رن أ مـــن النوتيدات الحـــرة .

(٣) يتحدد تتابع النوتيدات فى الـ م • رن أ بتنظيم النوتيدات فى أحـد خيطى الـ د ن أ (الخيط الفعال طبقا لقاعدة تزاوج القواعـــد التكاملى).

(٤) فى المثال المرسوم فى الشكل أعلاه يكون تتابع النوتيدات فى الـ م • رن أ تكامليا للخيط السفلى من الـ د ن أ .

المرجع: كتـــاب Understanding DNA and Gene Cloning, Karl Drlica (1984): John Wiley & Sons



شكل (١١- ٦) : تابع عملية النسخ Transcription • رسم تخطيطى لتكوين الـ م •رن أ بواسطة إنزيم بلمرة الـ رن أ ،متصلا بريبوسوم وهو تركيب كروى الشكل يرتبط به الـ م •رن أ • لاحظ فى الدائرة المشار اليها بالسهم وجود شفرة ثلاثية (AUG) على جزئ الـ م • رن أ تستقبل شفرة مضادة (أنتى كودون anticod) على جزئ ت•رن أ مشحون بحمض أمينى معين (أمينو أسيل ت•رن أ) (انظر عملية الترجمة) • فى البكتريات يظل الـ م•رن أ متصلا بالـ د ن أ عند ما يرتبط بريبوسوم ،أما فى الكائنات الراقية كالانسان مثلا ،فان الـ م•رن أ ينسلخ من الـ د ن أ قبل أن يتصل بريبوسوم •

(عن نفس المرجع فى الشكل ١١- ٥) •

ومع ذلك لابد أنها تكون قادرة على أن تسيطر على أنشطة الخلية ، وبوجه خاص تخليق البروتين ، لذلك فهي تكوّن نُسْخة تنتشر بعيدا عن الكروموسومات وتشارك في تخليق البروتين . وبذلك لاتبقى النُّسَخ مرتبطة هيدروجينيا بالقالب وبدلا من ذلك فهي "تتسلخ" من الكروموسوم ، كما هو موضح في الشكل (١١ ـ ٨) . وذلك في الكائنات مميزات النوى . وعلاوة على ذلك فهي ليست ممهورة بنفس نوع الاستدامة كالمادة الوراثية الأصلية ، وبدلا من ذلك ، فهي تتجرد بواسطة انزيمات الريبونيوكلييز الخلوية بمجرد أن تنقضي فائدتها الوظيفية . أما في البكتريات فيكون خيط الـ م . رن أ متصلا بالريبوسوم أثناء عملية الاستنساخ (الشكل ١١ ـ ٦) ، ويرجع ذلك الى طبيعة هذه الكائنات وسرعة تكاثرها .

(٢) الترجمة : Translation

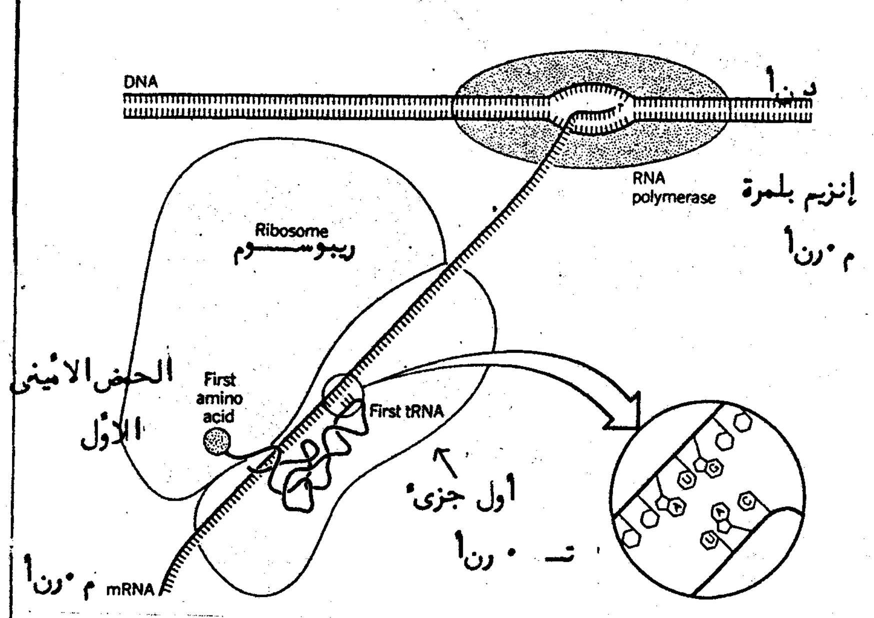
بمجرد ما أن يُسْتَنْسَخ transcribed جين ما في صورة جزئ م . رن أ ، فان هذا الجزئ يصبح حاملا للرسالة messenger حيث يحمل المعلومات الشفرية الوراثية من الـ د ن أ (الجين) الى تراكيب تحتخلوية sub-cellular وهي "الريبوسومات Ribosomes" ، وبأسلوب جزيئي ، فالريبوسومات عبارة عن تراكيب كروية الشكل كبيرة الحجم نسبيا ، تترجم translated فيها المعلومات المحملة في الـ م . رن أ mRNA (حامل الرسالة) ، من اللغة النوتيدية nucleotide lang. الى لغة الاحماض الأمينية Amino acid language . وبمجرد ما أن تخلق سلسلة من الأحماض الأمينية ، فانها تلتف تلقائيا لتكون البروتين المحدد بواسطة الجين في جزئ الـ د ن أ .

وتخلق الببتيدة المتعددة بطريقة مرحلية (الشكل ١١ ـ ٧) ، مبتدئة بالحمض الأميني عند طرفها ن = N ومنتهية بالحمض الأميني عند طرفها ك = C

وبطريقة مشابهة فان الـ م ٠ رن أ الذى يحكم تتابع الببتيدة المتعددة يُستَرجم بواسطة جهاز تخليق البروتين بطريقة مرحلية كذلك ، مبتدئا بشفرة واحدة فى وقت واحد ، عند أو بالقرب من الطرف ٥َ ومستمراً تجاه الطرف ٣َ ٠

وفيما يلى نستعرض ميكانيكية عملية الترجمة : (أ) يقوم جزئ الـ م ٠ رن أ بالارتباط بريبوسوم ما بالقرب من موقع فيه يسمى شفرة البداية start codon وهى عبارة عن وحدة ثلاثية القواعد تشير الى مكان بداية start قراءة الرسالة المخزنة فى الـ م ٠ رن أ (أنظر الشكل ١١ — ٧) وتبدأ هذه الخطوة فى الكائنات البكتيرية قبل أن تتم عملية تخليق جزئ الـ م ٠ رن أ ، ومن ثم ، فان الـ م ٠ رن أ والريبوسومات تكون متصلة بالـ د ن أ (الشكل ١١ — ٧) ، أما فى الكائنات العليا — وبضمنها الانسان — فانّ الـ م ٠ رن أ ينسلخ بعيدا عن الـ د ن أ قبل أنْ يتصل بالريبوسومات ٠ وفى نفس الوقت نجد أنّ العشرين نوعا مختلفا من وحدات الاحماض الامينية ، والتى سوف ترتبط مع بعضها لتُشَكّل بروتينا ما ، تكون سابحة بحرية فى الخلية ٠ (ب) تشمل الخطوة التالية اتصال كل حمض أمينى بطراز آخر من جزيئات الـ رن أ وهو ت ٠ رن أ مترجم الشفرة transfer (ويرمز له بـ ت ٠ رن أ tRNA) ٠ ويعمل الـ ت ٠ رن أ كموصل adapter لقراءة المعلومات المحملة فى الـ م ٠ رن أ ٠ ولتتم عملية الوصل ، فانّ كل حمض أمينى يتم التعرف عليه بنوع محدد من الانزيمات (أنظر الشكل ١١ — ٣) يسمى إنزيم تخليق الامينوأسيل ت ٠ رن أ Aminoacyl-tRNA synthetase (أو إنزيم تخليق جزيئات ت ٠ رن أ المشحونة بالأحماض الامينية) ٠ ويوجد أكثر من ٢٠ إنزيما من إنزيمات تخليق جزيئات ت ٠ رن أ المشحونة بالاحماض الامينية ، على الاقل إنزيم واحد لكل نوع من الاحماض الامينية ، حيث يتعرف كل انزيم ، ويتصل بنوع واحد فقط من هذه الاحماض الامينية ٠ كما أنّ كل انزيم قادر أيضا على التعرف والاتصال بنوع محدد من جزيئات الـ ت ٠ رن أ ٠ ويوجد نوع خاص مختلف

من ت٠رن أ لكل نوع من الأحماض الأمينية • وبمجرد ما أن يتصل حمض أميني معين وجزىء ت٠رن أ بانزيم تخليق أمينو أسيل ت٠رن أ محدد ، عندئذ يقوم الانزيم بربط الحمض الأميني بجزىء الـ ت٠رن أ (أنظر الشكل ١١ـ ٣) • بعد ذلك ينفصل جزىء الـ ت٠رن أ المشحون بالحمض الأميني عن الانزيم • وتكون النتيجة النهائية تخليق عشرين نوعا من جزيئات الـ ت٠رن أ المشحونة بالأحماض الأمينية • aminoacyl-tRNAs .(جـ) من المعروف أن كل جزىء من جزيئات الـ ت٠رن أ tRNA له منطقة ثلاثية النوتيدة تسمى "الانتى كودون "الكودون المضاد anticodon (على سبيل المثال C A U في الشكل ١١ـ٧) تقع في اتجاه عكس النهاية التي يتصل عندها الحمض الأميني المحدد • ويلاحظ أن كلا من الأنواع العشرين من جزيئات الـ ت٠رن أ له كودون مضاد مختلف • ومن ثم فإنّ كل حمض أميني محدد عند نهاية جزىء الـ ت٠رن أ يتوافق دائما مع وحدة محددة من ثلاث نوتيدات في منطقة الكودون المضاد في جزىء الـ ت٠رن أ . ويضمن تخصص انزيم تخليق جزئيات ت٠رن أ المشحونة بالحمض الأميني المحدد aminoacyl-tRNA synthetase هذا التوافق بين الانتى كودون والحمض الأميني • ويمكن للكودون المضاد أن يوجه ليكوّن أزواجا من القواعد مع جزىء الـ م٠رن أ (messenger RNA) المتواجد في الريبوسوم (الشكل ١١ـ٧) • ويلاحظ أنّ كل جزىء محدد من جزيئات الـ ت٠رن أ له شفرة مضادة (أنتى كودون) متكاملة complementary مع شفرة الابتداء start codon أو الثلاثية على جزىء الـ م٠رن أ • ويلتقى كل من جزىء الـ ت٠رن أ المحدد والمشحون بالحمض الأميني وجزىء الـ م٠رن أ على الريبوسوم بما يسمح لكلا الثلاثيتين (الكودون في الـ م٠رن أ والكودون المضاد على الـ ت٠رن أ من تكوين أزواج من القواعد base pairs) • ويُحكَم هذا الاتصال بقاعدة تزاوج القواعد التكاملية، فاذا كان كودون البداية على الـ م٠رن أ هو A U G فان جزىء الـ ت٠رن أ الوحيد الذى سوف يتوافق معه يحمل



شكل (١١ ـ ٧) : رسم تخطيطى لعملية الترجمة **Translation**

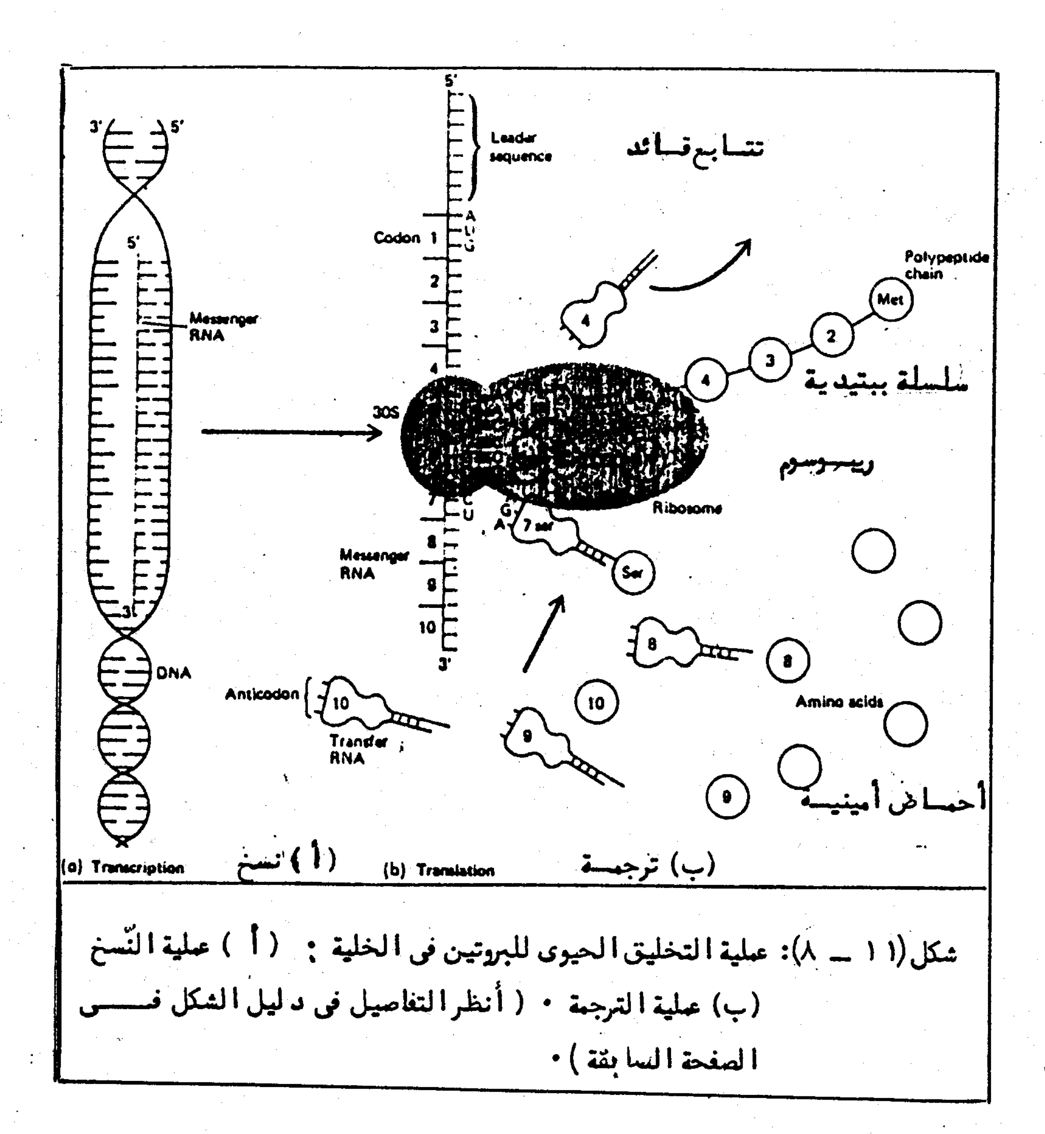
التعرف مابين الشفرات A U G والشفرات المضادة C A U

أثناء الترجمة (١) يرتبط كودون البداية AUG على جزئ الم ٠ رن أ مع الكودون المضاد UAC على أول جزئ ت ٠ رن أ مشحون بأول حمض أمينى ،وذلك فى الريبوسوم ٠ يتميز كل من الرن أ و الدن أ بنهايات يسارية ويمينية ٠ وتقليديا يُكْتَب تتابع القواعد من الشمال لليمين وبالرغم من ذلك وعندما يحدث تزاوج القواعد التكاملى فإنّ أحـــد الخطين يكون من الشمال لليمين والآخر يكون من اليمين الى الشمـال ويترتب على ذلك أنه إذا كُتِب الكودون A U G ،فإنّ الكودون المضاد (أنتى كودون) يجب أن يُعْكَس أثناء تزاوج القواعد كما يبدو علـى شكل U AC فى الرسـم ٠ (عن نفس المرجع فى الشكل ١١ ـ ٥) ٠

دليل الشكل :((١١ــ٨) :

مخطط يوضح عمليتى النسخ والترجمة : (أ) أثناء النسخ يعمل خيط من حلزون الـ د ن أ كقالب لتخليق نُسخَة من رن أ تكاملى (فى هذه الحالة رن أ حامل الشفرة mRNA) وبعدئذ "ينسلخ "هذا الـ م ·رن أ من قالب الـ د ن أ · (ب) أثناء الترجمة تتداخل ثلاث فئات من رن أ مع أنواع من إنزيمات وبروتينات لتُولّد تكوين سلسلة متعددة الببتيدات جديدة · رن الريبوسومى (rRNA) هو أحد مكونات الريبوسومات التى تخدم كنوع من السقالات لعملية تخليق متعددة الببتيدات · تحتوى الريبوسومات على وحدة فرعية كبيرة (50S) ووحدة فرعية صغيرة (30S) · يتداخل رن أ مترجم الشفرة (ت · رن أ tRNA) مع أحماض أمينية ويقوم بدور الوسيط فى إيلاجها الصحيح فى السلسلة متعددة الببتيدات النامية · يحمل رن أ حامل الشفرة mRNA المعلومات المسجلة فى جين ما للريبوسوم لنقل المعلومات شفريا كمجموعات من ثلاث نوتيدات ،كل منها مُحَدِّد لحمض أمينى معين · وكل شفرة يتعرف عليها بشفرة مضادة (anticodon) على جزئ رن أ مترجم للشفرة (tRNA) ارتبط مسبقا بحمض أمينى معين · فى الشكل مُثِّلَت الأحماض الأمينية بدوائر مرقمة · الحمض الأمينى جليسين glycine يظهر وكأنه قد ربط حالا فى موقعه على الريبوسوم بواسطة رن أ مترجم الشفرة المختص ،وسوف يُكوّن رابطة ببتيدية مع الليوسين leucine ،ومن ثم مُطيلا السلسلة متعددة الببتيدات النامية. وبعدئذ يتحرك الريبوسوم بطول شفرة على امتداد الـ م · رن أ وبذلك يتهيأ الوضع ليرّبط رن أ مترجم الشفرة الحامل للحمض الأمينى سرين serine .

كودونا مضاداً يُقرأ C A U (إذا غيّرت اتجاه C A U ،فإنه يكون U A C وفى هذه الحالة يصبح مكملا لـ A U G ،أنظر دليل



شكل(١١ — ٨): عملية التخليق الحيوى للبروتين فى الخلية : (أ) عملية النّسخ (ب) عملية الترجمة • (أنظر التفاصيل فى دليل الشكل فى الصفحة السابقة) •

الشكل ١١ ــ ٧) • ومن ثمّ فإنّ الحمض الأمينى المحدد والمتصل بهذا الـ ت•رن أ سوف يوضع فى مكانه الصحيح ليصبح الرابطة الأولى فى سلسلة البروتين الجديدة المُخلّقة • (د) ويصور الشكل (١١ــ٨) كيفية ترتيب الأحماض الأمينية فى البروتين الجديد • فنجد أنّ الكودون الثلاثى الثانى على جزىء الم•رن أ يحتل مكانا على الريبوسوم يتلو الكودون الأول ،وهو أيضا يتم التعرّف عليه بالكودون المضاد فى جزىء ت•رن أ حامل لحمض أمينى ،وهو الحمض الأمينى الذى يأخذ مكانه ليصبح الرابطة الثانية فى البروتين الجديد المُخلّق • وتقوم نوعيات أُخَر من البروتينات المتصلة بالريبوسومات بوصل الحمضين الأمينيين مع بعضهما • ثم ينفصل الحمض الأمينى الأول من جزىء الـ ت•رن أ الخاص به ،كما ينفصل أيضا جزىء الـ ت•رن أ من الـ م•رن أ مُتَمّماً بذلك دورة من عملية الترجمة Translation • وعندما تُواجه شفرات متعاقبة من الـ م•رن أ مواقع ريبوسومية معينة ،فإنّ جزيئات متعاقبة من الأمينو أسيل ــ ت•رن أ تساهم فى التعرف على حدث الشفرة والشفرة المضادة والذى يُفْتَرض أنه يتم بالطريقة المعتادة ،أى تكوّن روابط هيدروجينية لتزاوج الأدنين باليوراسيل والجوانين بالسيتوسين •

وبعد ذلك يتحرك الـ م•رن أ على طول الريبوسوم ،كما يتحرك مغناطيس على رأس (head) جهاز تسجيل • وتَحَرّك الكودونات الثلاثية واحداً بعد الآخر على طول الريبوسوم ،ويقوم كل جزىء ت•رن أ مناسب بالارتباط بكل وحدة ثلاثية واضعاً الحمض الأمينى الصحيح فى مكانه المناسب ليتصل بسلسلة البروتين المتنامية • وعندما يصادف جهاز الترجمة إشارة الانتهاء stop signal ،ينسلخ جزىء الـ م•رن أ من الريبوسوم ثم ينطلق البروتين الجديد المُخَلّق إلى سيتوزبلازم الخلية حيث يبدأ فى السيطرة على التفاعل الكيميائى المُحدد والذى خُلِّق من أجله ،ويُصوِّر الشكل (١١ــ٨) منظور تخطيطى شامل لعملية تخليق البروتين فى الخلية •

الباب الثاني عشـــر

ضبط إيقاع وتنظيم عمل المادة الوراثيـــة

Regulation of Genetic Material

مقدمة :

سبق أن تناولنا - في باب الطفرة على المستوى الجزيئي - تعريف الجين على مستوى البناء للمادة الوراثية • وأشرنا إلى أن العالم فريز Freeze ومعاونوه عام ١٩٦١ قد وضعوا ثلاثة مصطلحات لتعريف الجين وهـــى : الميوتن Muton (وهو وحدة الطفرة) والريكون Recon (وهو وحدة الاتحادات الجديدة) والسيسترون Cistron (وهى وحدة الوظيفة) • وفى هذا الباب سوف نتناول تعريف الجين مـــن وجهة نظر ضبط إيقاع وتنظيم عمل الجيـــن ذاتـــه •

أنواع الجينات على مستوى عمل المادة الوراثيـــة :

يمكن تقسيم الجينات بصورة عامة إلى طرازين رئيسيين همـــا :

١ - الجين التركيبـــى Structural Gene

٢ - الجين التنظيمـــى Regulatory Gene

وفيما يلى ســـوف نتناول كلا الطرازيـــن بالتفصيـــل •

أولا : الجيـــن التركيبـــى Strugtural gene:

الجينات التركيبية هى التى تشفر للخصائص المُميِّزة لتخليق بعض أنـــواع من المواد البيوكيميائية • وقد تكون هذه المواد واحدة من المركبات الآتيـة :

أ - إنـــزيم : وقد يكون أىّ نوع من الانزيمات العديدة فى الخليـــة •

ب — بروتين تركيبى غير إنزيمى a non-enzymatic structural prot
مثل أحد أكتينات actins الخلايا العضلية ، أو الكولاجين collagen
الخاص بالأنسجة الضامـــة .

جـ — بروتين ناقل a transport protein كهيموجلوبين خلايا الـــدم
الحمر الناقل للأكسجين .

د — هرمون متعدد الببتيد polypeptide hormone كالانســـولين .

هـ — بروتينات مناعية immuno-proteins مثل الجلوبيولينات المناعية
immunoglobins (أو الأجسام المضادة antibodies) .

و — أحد مكونات نظام تجلط الدم blood coagulation system ، أو
النظام المكمل complementary system (وهو المتدخل فـــى تحـــلل
البكتريات بواسطة أجسام مضادة للميكروبات antimicrobial antibody .

ز — رنا RNA غير مترجم مثل الر . رنا أو الـ ت . رنا tRNA .

ح — بروتين يسمى المثبط repressor يمنع نشاط بعض الجينـــات
الفردية أو التجمعات الجينيـــة (أنظر ميكانيكية السيطرة فى جزء لاحق) .

ثانيا : الجيـــن التنظيمـــى :Regulatory gene

الجينات التنظيمية هى التى لا تنسخ not transcribed إلـــى
م.رنا ، ومن ثم فلا توجد لها نواتج كيميائية . ويسلك هذا النوع من الجينات
كـ "عوامل تحويلية switching devices" لتشغيـــل
(turn on) أو لتوقف (turn off) عمل واحد أو أكثـــر مـــن
الجينات التركيبية الواقعة تحت سيطرتها . وتشمل قائمة الجينات التنظيمية
المصطلحات التاليـــة :

أ ـ المحفزات Promoters (ومفردها جين محفز)

ب ـ الفاصلات Terminators (ومفردها جين فاصل)

ج ـ المشغلات Operators (ومفردها جين مشغل)

د ـ المخففات Attenuators (ومفردها جين مخفض)

وفيما يلى سوف نستوضح وظيفة كل نوع من هذه الجينات بشىء من التفصيل وعلاقة كلا منها بالآخر وبالجينات التركيبية ٠

أولا : الجين المحفز : Promoter Gene

المقطع المحفز من الدنا هو المنطقة التى عندها يرتبط من البداية إنزيم بلمرة الدنا mRNA-polymerase قبل استنساخ المقطع المجاور من الدنا الى الرنا ٠ ولا تسمح كل المحفزات لانزيم بلمرة الدنا بالارتباط بها بدرجات متساوية ٠ فالجينات البكتيرية والتى يحتاج الى نواتجها بكميات كبيرة نسبيا ، من المتوقع أن يكون لها محفزات كفوءة بدرجة عالية ٠ ويمكن لخلية بكتيرية ما أن تعوض ضعف الكفاءة النسبية لمحفز ما باحتوائها على نسخ كثيرة من الجينات التركيبية المطلوبة (كل جين تركيبى له محفزه الخاص به) فى طاقمها الجينى ٠

وتحتوى معظم خلايا مميزات النوى (النباتات و الفطريات والحيوانات) على تتابعات دنا وفيرة repetitive (فى بعض الأحيان قد تصل الى ١٠^٦ ضعفا لكل طاقم جينى) ، لكن تتابعات الدنا الوفيرة تكون نادرة ـ أو غير موجودة ـ فى خلايا الكائنات بدائيات النوى (البكتريات والطحالب الخضراء المزرقة (Blue-green Algae).

ثانيا : الجين الفاصـــل : Terminator gene

الجين الفاصل هوعبارة عن تتابع من الـ د ن أ يمكن أن يتم التعرف عليه بواسطة نوع من البروتين الفاصل يسمى العامل rho(p) ووظيفة التتابع الفاصل هو وقف تحرك إنزيم بلمرة الـ رن أ على طول تتابع الـ د ن أ عند ما يصادفه تواجد العامل rho(p) على الـ د ن أ ، حيث تتوقف عنده الرسالة الخاصة بتخليق متعددة ببتيـــدات محــــددة .

ثالثا : الجين المشغل : Operator gene

التتابع المشغل هو عبارة عن مقطع من الد ن أ (ما بين مُحفِّز وجين تركيبى) يرتبط عنده البروتين المثبط ،فيمنع تحرك إنزيم بلمرة الـ رن أ فى هــــذه المنطقـــة ، ومن ثمّ لايمكنه استنساخ الجين أو الجينـــات المجـــاورة .

ويطلق على المنطقة المحفزة (promoter region)، والموقع المشغـل (operator locus) والجين (أو الجينات التركيبية) structural gene الواقعة تحت سيطرة مشغل ما ـ يطلق عليها جميعها أسم "الأوبرون Operon ".

رابعـــا : الجيـــن المخـــــفض :Attenuator

يُعتَقد أنّ الجين المخفض عبارة عن منطقة من أوبرون ما تعتمد علــــى عامل p (p-factor) ، تتوقف خلالــها معظم جزيئات إنزيــم بلمرة الـ رن أ عن الاستطالة قبل أن تنضج . وبالرغم من ذلك ، يمكن لعمليــة الاستنساخ أن تستمر بطريقة عادية فى وجود عامل مضاد للتوقف anti-terminator (إما بروتين محدد مثل ناتج الجين N للبكتريوفــاج لامبدا λ) أو ت . رن أ غير مشحون بحمض أميـــــنى (deacylated or unloaded tRNA)

مثل ذلك الخاص بتخليق الحمض الأميني تربتوفان) .

وعادة ما تقع منطقة التتابع المُخَفِّض داخل التتابع القائد (leader sequence) — وهو مقطع من الدنا مابين الموقع المشغل والكودون البادئ للبروتين الناتج من أوبرون معين . ويلاحظ أن التتابع القائد في المنطقة المقابلة من الم . رنا لايُتَرجم إلى أحماض أمينية .

ويلاحظ أنه ليس للأوبرونات جميعها تتابعات مُخَفِّضة . وليس من الواضح حتى الآن كيف يمكن لعملية الفصل termination المحددة بالعامل rho أن تكون غير ذات قيمة ، في منطقة المخفض ، و ليس في منطقة تتابعات الانتهاء termination sequences في نهاية تتابعات جين واحد تركيبي monogenic أو تتابعات جينات متعددة polygenes تركيبية . وبالرغم من ذلك ، ففي كثير من الحالات يمكن لانزيم بلمرة الرنا أن يقرأ (يتعرّف) على إشارة الانتهاء من الترجمة ، لكنه يفترض أنه لا يتعرف على أيه إشارات توقّف داخل منطقة المخفض.

الميكانيكيات المسيطرة على عملية النسخ :

Transcriptional Control Mechanisms

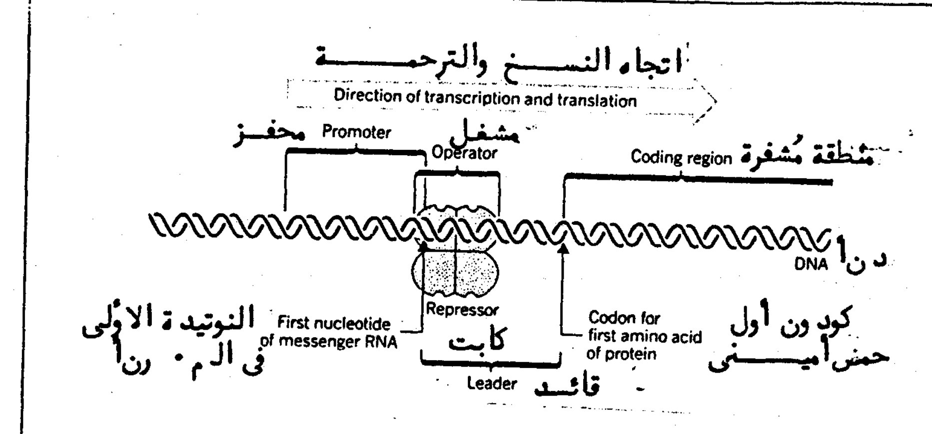
توجد عدة ميكانيكيات في الخلية تتحكم في أنشطة وعمل الجينات وسوف نتناول هنا اثنتين من هذه الميكانيكيات بشيء من التفصيل وهما عملية السيطرة (Repression) وعملية التخفيض (التهدئة Attenuation) .

(١) السيطرة (الكبت) Repression :

سواء وضعت الجينات في بكتريات لانتاج كميات كبيرة من بروتين معين ، أو في حيوانات أو آدميين لتصحيح جينات معيبة defective أو في نباتات لتحسين مصادر الغذاء ، فإن المهندس الوراثي يجب أن يكون قادرا على تنظيم انتاج الـ رنا ، أو بمعنى آخر يجب أن تشغل الجينات turned on أو توقف turned off في الأوقات المناسبة .

وتوجد ميكانيكيتان لتنظيم إنتاج الـ م رنا حامل الرسالة (mRNA) درستا دراسة وافية في البكتريات . ففي الميكانيكية المسماة الكبت (أو السيطرة) repression يُوقَف تخليق الـ م رنا بواسطة بروتين معين . أما الميكانيكية الثانية لهذا التنظيم فتسمى التهدئة attenuation وفيها يُخَلّق جزئ قائد leader قصير من الـ م رنا ، لكن تخليق الـ رنا يُعَاق halted قبل الوصول إلى منطقة الجين . وفيما يلي سوف نتناول بالتفصيل ميكانيكية الكبت repression ، أما ميكانيكية التخفيف التهدئة attenuation فسوف نتناولها في جزء لاحق .

تمت دراسة تنظيم عمل الجين بواسطة الكابتات repressors دراسة مكثفة باستخدام جينات تسيطر شِفْريا (coding for) على تخليق إنزيمات تلعب دورا هاما في هدم مواد غذائية تدخل بعض الخلايا البكتيرية . وما لم تُوجَد المادة المعينة ، فلا مجال لانتاج الانزيم الذي يهدمها ، ويُوقَف عمل بعض الجينات التي من هذا النوع بواسطة بروتين خاص يسمى البروتين الكابت repressor prot. ، والذي يرتبط خصيصا بالدنا الذي يقع مباشرة أمام الجين الذي يسيطر على تخليقه (أنظر الشكل ١٢-١) . وطالما بقي البروتين الكابت جاثماً على الدنا ، فانّ إنزيم الـ رنا يكون غير قادر على بدء إنتاج رسالة من ذلك الجين . فاذا ما أصبحت المادة الغذائية متوافرة



شكل (١٢ ـ ١) :

رسم تخطيطى يوضح التحكم فى تعبير الجين من خلال ميكانيكية السيطرة (الكبت repression).

(أ) عادة مايرتبط إنزيم بلمرة الـ رن أ بمنطقة من الـ د ن أ تسمى المُحفِّز promoter

(ب) بعد ذلك يُخَلِّق إنزيم البلمرة مقطعاً قائداً قصيراً من RNA متبوعا بالمقطع المُشَفَّر coding region of DNA للجين .

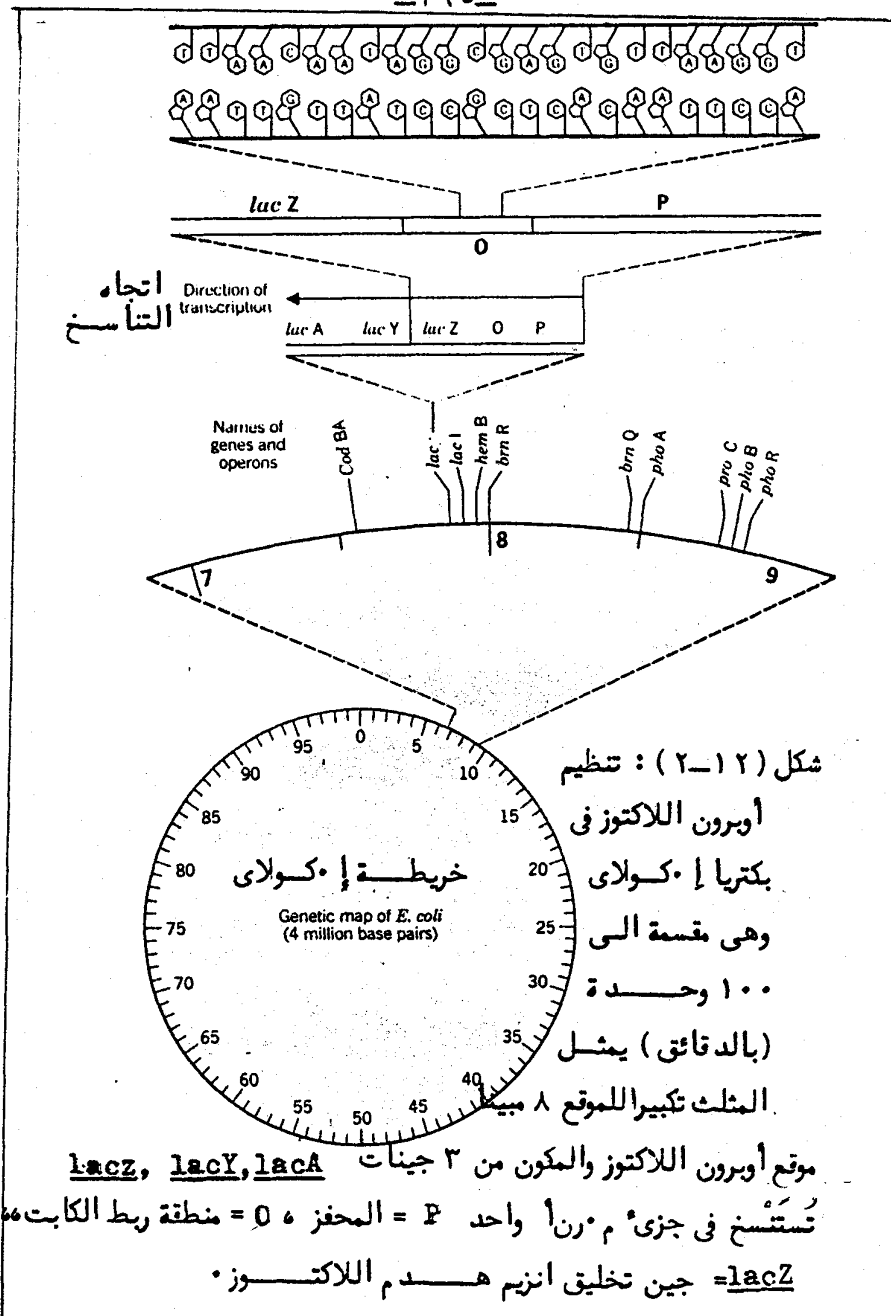
(ج) أيضا يخدم مقطع الـ د ن أ المحتوى للمعلومات الخاصة بالـ رن أ القائد لموقع ربط binding site للبروتين الكابت، يسمى هذا المقطع من الـ د ن أ بالمشغل operator.

(د) عند ما يرتبط البروتين الكابت بالمُشغِّل ،يصبح إنزيم بلمرة الـ رن أ غير قادر على الارتباط بهذه المنطقة من الـ د ن أ ،ومن ثمّ لايمكنه تخليق الـ م. رن أ .

(المرجع : كتاب (Understanding DNA and Gene Cloning, Karl Drlica, 1984, John Wiley & Sons).

فجأة ودخلت الخلية ،فان البروتين الكابت يرتبط بها ويترك موقعه على الـ د نأ ،
وبمجرد ما أن يحدث ذلك ،فانّ إنزيم بلمرة الـ م ٠رنأ يرتبط بالـ د نأ بالقرب
من بداية الجين فى منطقة تسمى المُحفّز promoter . وفى هذه
الحالة يعمل إنزيم بلمرة م ٠رنأ على التوّ promptly فى تخليق الـ م ٠ رنأ
المطلوب خليق الانزيم اللازم لهدم المادة الغذائية ٠ ويقوم جزئ الـ م ٠ رنأ
الجديد بالارتباط بالريبوسومات ثم يُتَرْجَم ــ كما سبق أن أوضحنا فى جزء سابق ،
منتجا إنزيم الهدم ٠ وطالما يتم تخليق الانزيم فإنه يبدأ مباشرة فى هدم المادة
الغذائية ٠ وعند ما يتم استهلاك كل المادة الغذائية المحددة ،ولايبق منها
أىّ شئ يمكنه الارتباط بالبروتين الكابت (repressor) ،فى هذه الحالة
يعود الكابت مرة أخرى عند النقطة المحددة له على الـ د نأ ،وهى منطقة
المُشَغِّل operator ،مسببا إعاقة ،مرة أخرى ،لانتاج الـ م ٠رنأ حامل
الرسالة الخاصة بتخليق إنزيم التجريد degradative ٠ ومن ثمّ تحتفظ
الخلية بطاقتها وذلك بواسطة إنتاج إنزيم التجريد المحدد فقط عندما يكون
هذا الانزيم ضروريا ٠ ويوجد مفهوم هام وهو أنّ كلّ جين مُسَيْطَر عليه بمثل هذه
الطريقة له بروتينه الكابت الخاص به ويحتوى على منطقة من الـ د نأ يرتبط
بها هذا الكابت وهى المُشَغِّل Operator .

وفى بعض الأحيان توجد عدة جينات تقع تحت سيطرة نفس البروتين
الكابت ،وتسمى مثل هذه المجموعة الجينية كوحدة واحدة مع بعضها باسم
"الاوُبرون Operon" ٠ ومن أحسن الاوُبرونات التى تمت دراستها
باستفاضة الاُبرون lac ،فى بكتريا إ ٠كولاى وهو يشمل ثلاثة جينات
تدخل فى انتقال وهدم سكر اللاكتوز (سكر اللبن) ٠ وهذه الجينات هى
lac Z , lac Y , lac A ،وهى مرتبة فى صف على
الكروموسوم البكتيرى بالقرب من الموقع الخريطى map position
رقم ٨ (الشكل ١٢ــ٢) ٠ ويبدأ انزيم بلمرة رنأ RNA polymerase



شكل (٢١ـ٢) : تنظيم أوبرون اللاكتوز فى بكتريا إ ٠كــولاى وهى مقسمة الى ١٠٠ وحـــدة (بالدقائق) يمثل المثلث تكبيرا للموقع ٨ مبينا موقع أوبرون اللاكتوز والمكون من ٣ جينات lacz, lacY, lacA تُستَنْسخ فى جزئ م٠رنأ واحد P = المحفز ، O = منطقة ربط الكابت، lacZ= جين تخليق انزيم هـــدم اللاكتــــوز٠

فى نسخ transcriping الـ م •رن أ من الموقع الموسوم بحرف P فى الشكل (١٢-٢) ، ثم يتوقف النسخ بعد المرور من خلال الجين lacA • ومن ثم فإن المعلومات من الجينات الثلاث تُنْسَخ فى جزىء واحد من الـ م •رن أ • و عند ما يرتبط الكابت lac (والمُشَفَّر له بالقرب من الجين lacI فى الشكل ١٢-٢) بالمشغل operator (المنطقة O فى الشكل ١٢-٢) ، فان عملية النسخ Transcription تُعاق فى وقت متزامن لكل الجينات الثلاثة • والآن يعرف التتابع النوتيدى لمعظم هذه المنطقة من الكروموسوم البكتيرى • كما يقوم علماء الوراثة الجزيئية - فى الوقت الحالى - باستيضاح التداخلات الكيميائية التفصيلية ما بين الكابت والمشغل •

(٣) التهدئة : Attenuation

تعتبر التهدئة attenuation من الميكانيكيات الخاصة بضبط تنظيم عمل الجين ، وفيها يُعَاق تخليق الـ م •رن أ بعد تكون مقطع قصير منه • و لقد درست هذه العملية باستفاضة لجينات تتعلق بتخليق بعض الأحماض الأمينية • ومن المعروف أن الأحماض الأمينية ضرورية لحياة الخلية على أساس أنها وحدات البروتينات ، لذلك يتطلب الأمر أن تُمَوَّن بها الخلية بطريقة ثابتة . وبالرغم من ذلك ، فإنّ انتاجها يكلف الخلية كمية كبيرة من الطاقة • ونتيجة لذلك فقد تطورت ميكانيكيات تسيطر بمنتهى الدقة على إنتاج الأحماض الأمينية وتحافظ على التوازن الصحيح والدقيق للعشرين حمضا أمينيا المختلفة داخل الخلية • والتهدئة هى إحدى هذه الميكانيكيات •

مثال : تخليق التريبتوفان : ففى عملية تهدئة فِعْل جينات تخليق الحمض الأمينى

تريبتوفان tryptophan ، (١) يبدأ إنزيم بلمرة الـ رنأ في تخليق م٠رنأ من مسافة قصيرة قبل بداية الجين الاول من الرسالة ،مُخَلِّقا مقطع رنأ قائد leader RNA • ويحتوى هذا الـ رنأ القائد على مقطع شفرى coding rigion لتخليق بروتين قائد .leader prot،كما أنّ بعضا من هذه الشفرات codons في هذه المنطقة يحدد عملية إيلاج insertion التريبتوفان في هذا البروتين القائد • ويوجد داخل هذه المنطقة القائدة أيضا إشارة تَوَقُّفٍ نشطة ومتغيرة تسمى المهدئ attenuator • (٢) عندما يتواجد حمض التريبتوفان بوفرة ،فان الريبوسومات تكون قادرة على ترجمة البروتين القائد ،ونتيجة لذلك تنثنى منطقة المهدئ في الـ رنأ بطريقة ما بحيث توقف نشاط إنزيم بلمرة الـ رنأ ، و يتخلق فقط المقطع القائد القصير • (٣) أما عندما يندُر التريبتوفان فانّ الريبوسومات تتوقف عندما تصل إلى كودونات التريبتوفان في الرسالة الشفرية للبروتين القائد • وهذا التوقف يمنع المهدئ .atten من إعاقة عمل إنزيم بلمرة الـ رنأ • ومن ثمّ يستمر الانزيم على طول الـ دنأ مُخلِّقا الرسالة كلها والتى تحتوى على الجينات الخاصة بالبروتينات الداخلة في تخليق التريبتوفان • ويحتوى كل من هذه الجينات على موقع بداية start site خاصٍ به على الـ م٠رنأ لربط الريبوسوم وتخليق البروتين • ومن ثم ،فإنّ مستوى حِمْض التريبتوفان في الخلية هو الذى يُنَظِّم إنتاجه •

أسئلة وتمارين عن البابيـــن (١١) و (١٢):

(١) وضح الأساليب التجريبية التى اتبعها العلماء لاثبات أن الشفرة الوراثية شاملــة لجميع صـور الحيـاة .

(٢) ماهو تعليلك لوجود فائض من الشفرات الوراثية فى الخلية ؟ وماهى أنمـاط هذه الشفرات؟ وماهو المقصود بإطار الشفرة ومـاذا يحدث لو انحـرف الاطار — وضح ذلك تخطيطـا ؟

(٣) ارسم مخططا أو مخططات لعملية توضح تعبير الجين عن نفسه مع ذكـر البيانات على الرسم كلما أمكن ذلـك .

(٤) يعتبر الـ ت.رن أ (tRNA) من أهم عناصر عملية تخليق البروتيـن — أذكر أنواعه وكيفية قيامه بدوره فى الخليـة .

(٥) عرّف الجين من وجهة النظر الوظيفية ،مع ذكر أنواع الجينات طبقـا لهـذا التعريـف .

(٦) عرف باختصار المصطلحات التاليـة :

(أ) الاوبرون " Operon" مع ذكـر مثـال .

(ب) عملية التهدئة Attenuation فى نشاط الجيـن .

(جـ) الشفرة الوراثيـة مرنـة Degenerate.

(٧) اشرح مع الرسم التخطيطى كيفية سيطرة المهنـدس الوراثى على تعبير الجيـن .